

## 토양세균의 Poly-3-hydroxybutyrate, Sky-Green® 및 Mater-Bi® 분해 특성

이애리 · 김말남\*

상명대학교 자연과학대학 생물학과

생분해성 플라스틱으로 현재 상업화에 가장 근접해 있는 poly-3-hydroxybutyrate (PHB), Sky-Green® (SG) 및 Mater-Bi® (MB)를 활성오니토 및 경작토에 매립하여 PHB 분해세균 3주, SG 분해세균 3주 및 MB 분해세균 1주를 분리하였다. PHB 분해세균은 *Flavimonas oryzihabitans*, *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* 및 *Micrococcus diversus*로, SG 분해세균은 *Pseudomonas vesicularis*, *Pasteurlla multocida* 및 *Flavobacterium odoratum*으로, MB 분해세균은 *Pseudomonas vesicularis*로 동정되었다. 각 플라스틱 film을 함유한 무기염 액체배지에서 28일 간의 생분해성 실험 결과 평균 중량감소는 PHB와 SG은 각각 44~69% 및 25~32%, MB는 29%를 나타내어 PHB의 생분해성이 가장 우수하였다. 각 플라스틱 film의 활성오니토 매립 전과 후의 표면 변화를 조사한 결과 미생물이 다공성의 film 표면에 많은 colony를 형성하는 것이 SEM으로 관찰되었다. PHB, SG 및 MB의 무생물적 분해와 *F. oryzihabitans*에 의한 미생물적 생분해를 TOC와 pH 변화로 측정하여 비교 분석하였을 때, SG과 MB는 분해 정도가 서로 유사하였으나 PHB는 SG과 MB에 비하여 약 3배 더 빠르게 무생물적 분해가 일어났다. Yeast extract를 포함한 배지에서 PHB, SG 및 MB의 분해는 yeast extract를 포함하지 않은 배지에서 보다 훨씬 빠르게 안정되었으며, 두 경우 모두 PHB의 분해는 SG 및 MB에 비하여 더 빠르게 이루어졌다.

**Key words** □ biodegradation, Mater-Bi®, PHB, Sky-Green®, soil bacteria, TOC

플라스틱은 금속, 목재 및 유리 보다 훨씬 경제적인 뿐만 아니라 내구성도 뛰어나 여러 소비재 및 특수 분야에 널리 이용되고 있으나, 그 사용량의 증가로 인하여 폐플라스틱이 발생하는 환경문제를 야기시키고 있다(4,16,24). 이에 따라 유럽에서는 현재 플라스틱 사용에 대한 정부 규정이 마련되어 있으며, 미국에서도 포장재 등의 많은 부분에서 그 사용을 제한할 전망이다(7).

대부분의 폐플라스틱은 재활용, 소각 및 토양매립 등의 방법에 의해 처리되고 있으나, 소각 보다는 자연속에서 생분해가 이루어지도록 하는 것이 가장 바람직한 해결 방법이며, 이를 위해서 생분해성 플라스틱의 개발이 국·내외에서 활발히 진행되고 있다.

생분해성 고분자는 기존에 사용되어 왔던 고분자들과 비슷한 물성과 기능을 가지면서 토양이나 해양 미생물에 의해 분해될 경우 환경 오염을 줄일 수 있다는 큰 장점을 지니고 있다. 대표적 생분해성 고분자인 poly-3-hydroxybutyrate (PHB)는 미생물에 의해 생합성되는 폴리에스테르로서(19,20) 생체 적합성이 뛰어나 수술용 봉합사 등의 의료용 또는 생분해성 농·어업용으로 이용되고 있다. 생분해성 합성 고분자로는 aliphatic polyester와 polyvinyl alcohol, polyethylene glycol 등이 알려져 있으며 토양이나 물 속에 존재하는 자연계의 미생물에 의해 분해 및 자화되거나 또는 효소에 의해 분해가 이루어지며, 원가를 절감할 수 있어 각종 생활용품의 원료로 이용될 수 있다(4,22). 또한 종래의

고분자 수지에 생분해성 천연 고분자인 전분을 혼합하여 만들어진 생분해성 고분자는 제조방법이 간편하고 기존의 가공장치를 이용할 수 있으며, 미생물에 의해 쉽게 분해가 이루어지는 장점이 있으나 완전히 분해되지 않으므로 잔여 플라스틱 회수의 어려운 점이 있다(1,6,11).

사용 후 폐기되는 플라스틱은 토양매립이 이루어지기도 하는데 처리된 플라스틱은 주로 토양 미생물의 세포의 효소에 의하여 분해가 이루어진다. 토양이나 하수의 미생물은 주로 세균, 곰팡이 및 원생동물 등으로 구성되는데 이들 중 대부분은 세균이며 토양에는 1 g 당  $10^8$  CFU 이상, 하수에는 400 여종 이상의 세균이 분포하고 있다(2,3). 그 중 *Pseudomonas lemoignei*, *Acidovorax facilis*, *Alcaligenes faecalis*, *Comamonas testosterani*, *Variovorax paradoxus*, *Zoogloea ramigera*, *Bacillus* sp. 등은 PHB 분해 세균으로 알려져 있으며(3), *Acinetobacter* sp., *Comamonas acidovorans*, *Microbacterium* sp., *Xanthomonas multophila* 등은 polyglycolide, polylactide 및 polycaprolactone과 같은 합성 고분자를 분해하는 세균으로 알려져 있다(9). 이들 분해세균은 주로 세포의 효소를 분비하여 고분자 구조 내의 ester 결합 부분이 가수분해되면서 생성되는 수용성 유기탄소를 에너지원으로 사용하는데 기질의 화학적 조성, 물성, 표면구조, 결정화도 및 copolymer의 조성 등이 효소 활성에 영향을 준다(10,14,21).

본 연구에서는 미생물 발효에 의하여 생합성되는 PHB, 유기합성 지방족 폴리에스테르인 Sky-Green® (SG) 및 전분이 함유된 생분해성 고분자인 Mater-Bi® (MB)가 토양의 특성이 상이한

\*To whom correspondence should be addressed  
Tel: 02-2287-5150, Fax: 02-395-1895  
E-mail: mnkim@pine.sangmyung.ac.kr

활성오니토와 경작토 속에서 분해되는 양상을 조사하였고, 이들 플라스틱을 분해하는 세균을 토양에서 분리·동정하였으며, 분해 전과 후의 플라스틱의 중량과 총유기탄소량(total organic carbon, TOC)의 변화를 측정하므로써 무생물적 분해와 토양세균에 대한 생분해성을 비교분석하였다.

## 재료 및 방법

### 플라스틱 시료

PHB는 ICI사(UK)에서 powder 상으로 공급받았으며, 중량 평균분자량이 470,000 g/mol인 것을 사용하였다. PHB film은 PHB powder를 chloroform에 3 wt%로 용해시킨 후 24시간 교반한 다음 상온의 petri dish 상에서 용매를 증발시켜 제작하였으며, 40°C로 유지된 진공 오븐에서 향량이 될 때까지 건조하였다. SG은 선경인더스트리(주)로부터 powder 상으로 공급받았으며 diacid와 diol로 구성되며 diacid인 succinic acid와 adipic acid가 7:3, diol인 butanediol과 ethyleneglycol이 91:9로 조성되어 있다. SG film은 150°C의 hot press에서 250 atm.으로 1분간 pressing하여 준비하였다. MB는 Novamont사(Italy)로부터 pellet 상으로 공급받았으며, 전분과 PVA(poly(vinyl alcohol))를 inter penetrating network 구조로 compounding 하였고 SG film과 동일한 방법으로 hot press를 이용하여 MB film을 제작하였다.

### 플라스틱 분해세균의 분리

하수처리장 부근의 활성오니토 및 서울시 구과밭 일대의 작물을 재배하는 밭의 경작토를 채취하여 토양을 87×15 mm petri dish에 충전한 후 PHB, SG 및 MB film(두께 200-280 μm)을 각각 취하여 각 토양이 담긴 petri dish에 묻었으며, 자연환경 조건에서 항온항습기를 이용하여 미생물이 생육할 수 있는 최적 습도(95±2%)를 부여하고 배양 온도를 28°C, 37°C 및 60°C로 달리한 PHB, SG 및 MB의 실험실적 토양매립 실험(15)을 통하여 매립환경에 따른 각 플라스틱의 분해양상과 분해세균 분포를 조사하였다. 매립 후 활성오니토와 경작토에서 각 플라스틱 film을 꺼내어 멸균 증류수에 넣고 플라스틱 film 표면의 미생물 군체가 떨어져 나오게 하여 준비한 균 혼합액을 각 플라스틱을 포함한 무기염 액체배지에 각각 접종하였다(12). 균 혼합액을 접종한 배지를 28°C, 37°C 및 60°C의 shaking incubator(Vision, vs-8480 SR, Korea)에서 수 회 계대배양 후 Nutrient Agar(NA) 평판 배지에 분주하여 28°C, 37°C 및 60°C의 incubator에서 배양시켜 각 colony를 취하여 순수분리하였다.

### 플라스틱 분해세균의 동정

순수분리된 세균은 균주의 형태적 특성을 조사하고, Vitek Identification System (bioMerieux, Vitek, Jr., USA)과 Automated Bacteria and Yeast Identification System (BIOLOG GP Microplate, USA)을 이용하여 생리적 특성을 조사하였으며, Bergey's Manual of Determinative Bacteriology(5)를 참조하여 동정하였다.

### 플라스틱 film의 분해 양상 관찰

PHB film은 16일간, SG film은 25일간, MB film은 30일간 37°C에서 활성오니토에 매립한 후 각 플라스틱 film을 꺼내어 film 표면의 형태 변화를 SEM(JEOL JSM-T220, Japan)으로 촬영하여 관찰하였다.

### 토양세균의 플라스틱에 대한 생분해성 평가

무기염 액체배지에 PHB, SG 또는 MB film을 각각 탄소원(두께 200 μm)으로 첨가하고 PHB, SG 또는 MB의 실험실적 토양 매립 실험에서 분리된 토양세균을 각각 1×10<sup>6</sup> CFU/ml씩 접종하고(12,14), 37°C에서 28일간 배양 후 플라스틱 film의 중량감소를 측정하여 PHB, SG 또는 MB의 생분해성을 평가하였다.

### 플라스틱의 무생물적 분해와 미생물적 생분해 측정

질소원으로 0.01% yeast extract를 포함한 무기염 액체배지와 yeast extract를 포함하지 않은 무기염 액체배지에 PHB, SG 또는 MB film을 각각 첨가하고 37°C에서 20일간 방치하여 무생물적 분해를 측정하였다. 미생물에 의한 플라스틱의 생분해를 측정하기 위해서는 0.01% yeast extract를 포함한 무기염 액체배지와 yeast extract를 포함하지 않은 무기염 액체배지에 PHB, SG 또는 MB film을 각각 첨가하고 생분해능이 가장 우수하였던 PHB 분해균주인 *F. oryzihabitans* LAR 19를 접종하여 37°C에서 20일간 배양하여 무생물적 분해와 비교하였다.

플라스틱의 무생물적 분해도와 미생물에 의한 생분해도는 TOC 분석기(TOC-5000 Analyzer, Shimadzu, Japan)를 이용하여 각 반응 전후의 TOC의 변화를 측정하여 조사하였고, pH 측정기(pH 134, Beckman)를 이용하여 pH의 변화도 함께 측정하였다.

## 결과 및 고찰

### 플라스틱 분해세균의 분리·동정

서로 다른 자연환경에서 생존하고 있는 토양 세균의 분리를 위하여 하수처리장 부근의 토양과 작물을 재배하는 밭의 경작토를 채취하여 28°C, 37°C 및 60°C에서 실험실적 토양매립 실험으로 PHB, SG 및 MB의 분해세균을 분리하여 Table 1에 나타내

**Table 1.** Isolation of PHB, SG and MB degrading bacteria from soils at different temperatures

Isolated strain	28°C		37°C	
	Activated sludge soil	Farm soil	Activated sludge soil	Farm soil
LAR 19			P <sup>a</sup>	P
LAR 20	P		P	
LAR 21				P
LAR 22			S <sup>b</sup>	M <sup>c</sup>
LAR 23	S		S	
LAR 24		S		S

P<sup>a</sup>, PHB degrading bacteria; S<sup>b</sup>, SG degrading bacteria; M<sup>c</sup>, MB degrading bacteria

**Table 2.** Morphological and physiological characteristics of PHB, SG and MB degrading bacteria isolated from activated sludge soil and farm soil

Characteristics	Isolated strain					
	LAR 19	LAR 20	LAR 21	LAR 22	LAR 23	LAR 24
Gram stain	-	+	+	-	-	-
Shape	rod	rod (v form)	spherical	rod	rod	rod
Size ( $\mu\text{m}$ )		$0.6 \times 1.5$	$0.6-0.9$	$0.5 \times 1.5$	$0.3 \times 1.0$	$0.6 \times 1.2$
Motility			-			
Capacity of growing in an enriched media	+	+		+	+	+
Oxidase test	-		-	+	-	+
Hydrolysis of urea	+	+		-	-	+
Oxidation of carbohydrate :						
Glucose	+	-	+	+	+	-
Lactose	-	-	-	-	-	-
Maltose	-	-		+	-	-
Mannitol	+	-		-	-	-
Xylose	+	-		-	-	-
Mannose		-	-			
Fructose		-				
Galactose		-				
Raffinose		-				
Sucrose		-				
Lysine decarboxylase reaction	-			-	-	-
Ornithine decarboxylase reaction	-			-	-	-
Arginine decarboxylase reaction	-			-	-	-
Production of indol	-			-	+	-
Utilization of malonate	-			-	-	+
Utilization of acetamide	+			-	-	-
Utilization of citrate	+			-	-	+
Hydrolysis of esculin	-	-	-	+	-	-
Growth in the presence of polymyxin B	-			-	-	+
Production of H <sub>2</sub> S	-			-	+	-
Plant Indican	-			-	-	-
Fermentation of sugar and sugar derivative						
Adonitol	-			-	-	-
Glucose	-			-	-	-
Inositol	-			-	-	-
L-Arabinose	-			-	-	-
Raffinose	-			-	-	-
Rhamnose	-			-	-	-
Sorbitol	-			-	-	-
Sucrose	-			-	-	-
Glucose fermentation in the presence of specific inhibitor						
2,4,4'-trichloro-2'-hydroxy-diphenylether	-			-	-	-
p-Coumaric acid	-			-	-	-
ONPG fermentation	-			-	-	-
Methyl red		-				
Nitrate reduced to nitrate		+	+			
Simmons citrate agar			+			
Nutrient agar with 7.5% NaCl			+			
Identified name	<i>Flavimonas oryzihabitans</i>	<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i>	<i>Micrococcus diversus</i>	<i>Pseudomonas vesicularis</i>	<i>Pasteuella-multocida</i>	<i>Flavobacterium-odoratum</i>

었다. 28°C에서 배양한 토양에서는 PHB 분해세균 1주와 SG 분해세균 2주가 분리되었고, 37°C의 토양에서는 PHB 분해세균 3주와 SG 분해세균 3주, MB 분해세균 1주가 분리되었다. PHB 분해세균인 LAR 19는 37°C의 활성오니토와 경작토에서 분리되었으며, PHB 분해세균 LAR 20과 SG 분해세균 LAR 23은 28°C와 37°C의 활성오니토로부터 분리되었으며, SG 분해세균 LAR 24는 28°C와 37°C의 경작토에서 분리되었다. LAR 22는 37°C의 활성오니토와 경작토에서 SG와 MB를 동시에 분해하는 세균으로서 분리되었다. 60°C의 토양 실험에서는 세균이 분리되지 못한 것은 실험 대상의 토양 속에 고온성 세균의 부재가 그 원인으로 사료된다.

Briese(1994) 등은 다양한 생태환경에서의 PHB 분해세균의 분포를 조사한 결과 PHB 분해세균의 수는 담수에서  $3.8 \times 10^3$  cells/ml, 농경지의 토양에서  $9.2 \times 10^3$  cells/g 및 퇴비에서  $4.3 \times 10^3$  cells/g으로 다양하며, 배양된 토양세균의 10% 이상이 PHB를 이용하는 것이 가능하다고 보고하였다.

본 실험에서 분리된 PHB, SG 및 MB를 분해하는 토양세균은 Vitek Identification System 과 Automated Bacteria and Yeast Identification System을 이용하여 동정하였으며 각 분리주에 대한 형태적, 생리적 특성을 Table 2에 수록하였다.

PHB 분해세균으로는 *Flavimonas oryzihabitans*, *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* 및 *Micrococcus diversus*가 분리되었으며, SG 분해세균으로는 *Pseudomonas vesicularis*, *Pasteurilla multocida* 및 *Flavobacterium odoratum*으로, MB 분해세균은 *Pseudomonas vesicularis*로 동정되었다.

*Flavimonas oryzihabitans*는 PHB 분해 세균으로 PHB를 체내에 축적하지는 않으나 PHB를 포함한 배지에서 성장할 수 있는 세균으로 알려져 있으며(5), *Pseudomonas* 속의 많은 균주는 PHB를 생산하거나 분해효소를 생성하는 것으로 알려져 있다. *Pseudomonas lemoignei*와 *Alcaligenes faecalis*는 가장 잘 알려진 PHB 분해균주이며 이들로 부터 PHB depolymerase를 분리 및 정제하여 PHB 분해기작이 밝혀졌으며(19,21), Labuschagne (1997) 등은 *F. odolatum*을 분리하여 이로 부터 lipase를 분리 정제하였다.

#### 플라스틱 film의 분해 양상

37°C의 활성오니토에 매립한 후 토양 세균에 의해 분해가 일어나기 전과 후의 PHB, SG 및 MB film의 표면을 SEM으로 관찰하여 Fig. 1에 나타내었다. Fig. 1의 (A), (C), (E)는 각각 분해되기 전의 PHB, SG 및 MB film 표면의 사진이며 (B), (D), (F)는 각각 PHB, SG 과 MB film의 토양매립 16, 25 및 30일 후의 토양 미생물 군집에 의하여 분해된 플라스틱 표면을 나타내는데 이로 부터 PHB film이 가장 잘 분해가 이루어 졌음을 알 수 있다.

분해되기 전의 PHB film은 SG 또는 MB에 비하여 그 표면이 훨씬 매끄럽지 못하는데 이는 PHB film을 chloroform 용액 coating 방법으로 제조한 반면, SG와 MB는 hot press를 이용하여 제조한 때문이며, 각 플라스틱 film들의 분해 후의 모습을 보면 분해과정 동안 생긴 작은 구멍들이 합류되어 큰 구멍을 이루

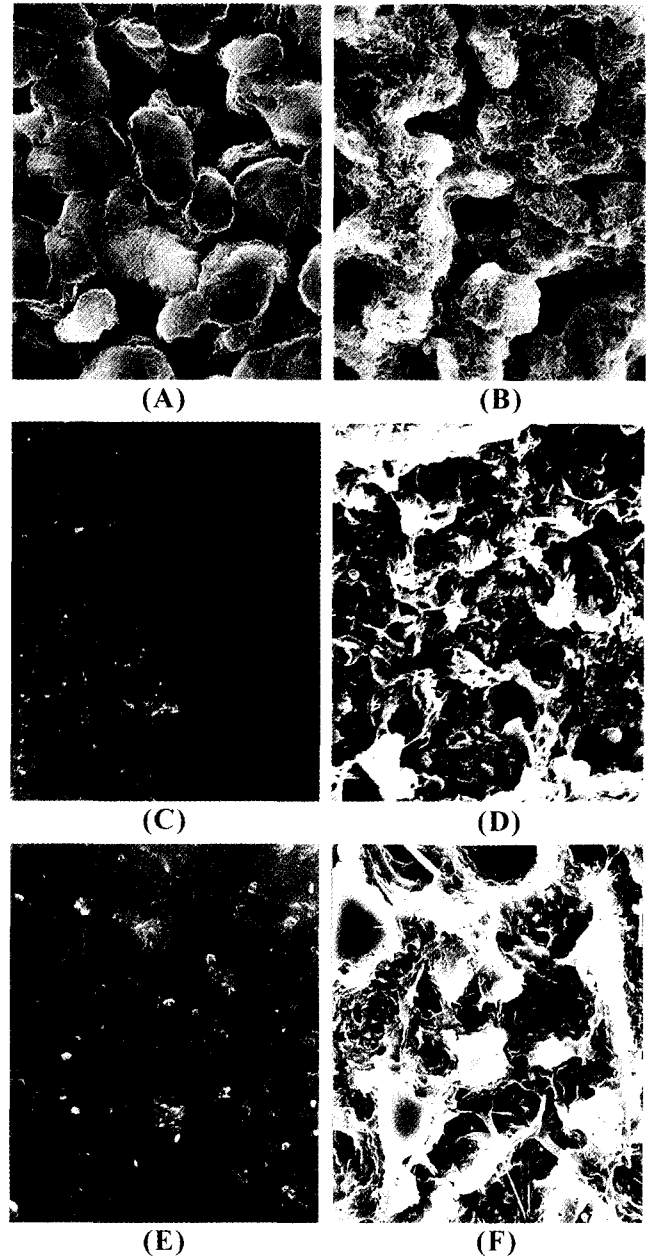


Fig. 1. SEMs( $\times 1,000$ ) of plastic film surface degraded by microorganisms in an activated sludge soil. (A), PHB control; (B), PHB degraded for 16 days; (C), SG control; (D), SG degraded for 25 days; (E), MB control; (F), MB degraded for 30 days.

고 부수한 균열들이 생겨나 플라스틱은 매우 부서지기 쉬운 형태로 변화하였음을 알 수 있다. 이는 토양세균들의 활발한 대사 활동으로 기인하는데 토양 미생물의 플라스틱 분해 효소는 고분자의 비결정성 부분에 침투하여 비결정성 부분을 먼저 분해시키고 서서히 결정성 부분을 공격하여 전체적인 분해가 일어나며, 이와 같은 분해는 플라스틱의 표면 부터 시작되어 내부로 연속적으로 진행되어 진다고 알려져 있다(13,18,19).

Itawa와 Doi(1997)는 PHB의 결정 부분의 분해기작을 설명하기

위하여 PHB single crystal의 효소적 분해 실험을 gold labeling 과 Transmission Electron Microscopy를 이용하여 관찰하였는데 PHB depolymerase는 PHB single crystal의 표면에 분포하며 효소의 활성 부위는 곧바로 결정내의 날카로운 층이나 사슬을 공격하지 못하고 결정의 가장자리 부분을 먼저 분해시킴으로써 분해가 일어난다고 설명하였다.

**토양세균의 플라스틱에 대한 생분해성**

각 플라스틱 film을 함유한 무기염 배지에서 분리된 토양세균 각각에 대한 생분해도를 평균적 중량 감소로 측정하여 Table 3에 제시하였다. PHB 분해세균의 경우 *F. oryzihabitans* LAR 19, *C. pseudodiphtheriticum* LAR 20 및 *M. diversus* LAR 21은 28일 경과후 각각 69%, 51% 및 44%의 분해도를 보였다. *P.*

**Table 3.** Weight loss of PHB, SG and MB after 28 days at 37°C by isolated soil bacteria

Strain	Plastic	Weight loss (%)
<i>Flavimonas oryzihabitans</i> LAR 19	PHB	69
<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i> LAR 20	PHB	51
<i>Micrococcus diversus</i> LAR 21	PHB	44
<i>Pseudomonas vesicularis</i> LAR 22	SG	32
	MB	29
<i>Pasteurlla multocida</i> LAR 23	SG	29
<i>Flavobacterium odoratum</i> LAR 24	SG	25

**Table 4.** TOC and pH of culture broth containing PHB, SG and MB films after incubation with *F. oryzihabitans* LAR 19 at 37°C

Degradation of plastics	Control		After 20 days of Incubation		
	TOC (mg/l)	pH	TOC (mg/l)	pH	
Abiotic hydrolysis of plastics	PHB	45.6 (18.8)	7.8 (7.3)	69.2 (28.7)	7.8 (7.3)
	SG	43.2 (18.6)	8.0 (7.5)	50.1 (21.6)	8.0 (7.5)
	MB	42.8 (18.5)	8.1 (7.6)	51.4 (22.4)	7.9 (7.5)
Biodegradation of plastics in the presence of microbes	PHB	44.0 (18.5)	7.6 (7.2)	133.4 (42.8)	7.3 (6.9)
	SG	41.5 (18.6)	8.0 (7.4)	67.2 (27.3)	7.4 (7.1)
	MB	42.4 (18.4)	8.2 (7.5)	64.6 (21.6)	7.3 (6.8)
Media containing microbes in the absence of plastics		43.6 (18.5)	7.9 (7.5)	18.5 (11.2)	7.8 (7.4)

The values of outside of the parentheses correspond to the experiments in the mineral salt media supplemented with 0.01% yeast extract, while the data in the parentheses indicate the results in the mineral salt media without yeast extract.

*vesicularis* LAR 22는 28일 경과 후 SG와 MB를 각각 32%와 29% 분해하였으며, *P. multocida* LAR 23과 *F. odoratum* LAR 24는 SG를 각각 29% 및 25% 분해시켜 토양세균은 SG 또는 MB 보다는 PHB 분해능이 더 우수함을 알 수 있었다.

**플라스틱의 무생물적 분해와 미생물적 생분해**

플라스틱 시료에 따라서는 무생물적 분해가 일어나서 미생물 생분해와 함께 무생물적 분해도 수반될 수 있다. 본 실험에 사용한 시료인 PHB, SG 및 MB에 대한 무생물적 분해와 미생물에 의한 생분해 정도를 각각 독립적으로 측정하여 플라스틱 시료의 종류에 따른 차이를 조사하였다.

플라스틱의 분해정도의 예측은 분해생성물 중의 TOC의 함량을 측정하여서도 평가할 수 있는데 이는 고분자 사슬 중에 결합된 ester bond가 가수분해 되거나 미생물 효소의 공격을 받아 분해되면서 유리된 수용액 중의 탄소 함량을 정량적으로 확인 할 수 있다(22). 미생물적 생분해 실험에는 PHB 분해능이 가장 우수하였던 *F. oryzihabitans* LAR 19를 각 플라스틱 film을 포함하는 무기염액체배지에 접종하여 TOC와 pH의 변화를 측정하였다. Table 4를 보면 SG와 MB는 20일 후의 무생물적 분해 정도가 서로 유사하였으나 PHB의 무생물적 분해는 SG와 MB에 비하여 약 3배 더 많이 일어났다.

Winursito와 Matsumara(1996)에 의하면 고분자량의 고분자 물질 중에는 친수성의 구조를 가지고 있어서 무생물적 분해는 잘 이루어지지만 생분해는 잘 이루어지지 않는 경우가 많기 때문에 고분자량의 생분해성을 평가할 때에는 무생물적 분해를 고려하여야 한다고 하였다.

한편 무생물적 분해를 제외한 순수한 미생물적 생분해는 yeast extract를 포함한 배지에서는 yeast extract를 포함하지 않은 배지에서 보다 PHB는 약 3.7배, SG은 약 3배, MB는 약 6.9배 더 미생물에 의한 생분해가 이루어져 배지에 yeast extract를 첨가한 경우에 더 활발한 균의 성장과 TOC의 증가를 관찰할 수 있었다. 이는 yeast extract가 질소원으로 작용하여 균의 성장에 영향을 끼친 것으로 판단되며 생분해성 평가에서 질소의 함량은 균의 성장과 분화 기작에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다(18).

Yeast extract를 포함한 배지에서의 미생물적 생분해는 PHB는 SG보다 약 3.5배, MB보다 약 4배 더 일어났으며, yeast extract를 포함하지 않은 배지에서는 PHB는 SG보다 약 2.8배, MB보다 약 7.6배 더 미생물에 의한 생분해가 이루어져 PHB 또는 SG과 비교할 때 MB의 분해에는 더 많은 질소가 필요함을 알 수 있었다. 플라스틱의 첨가없이 분해 균주만 접종한 경우 TOC가 감소한 것은 미생물이 yeast extract를 균체의 성장에 필요한 영양분으로 이용하였기 때문으로 사료된다.

**참고문헌**

1. Antranikian, G., A. Rüdiger, F. Canganella, M. Klingeberg, and A. Sunna. 1995. Biodegradation of polymers at temperatures up to 130°C. *J. M. S. Pure Appl. Chem.* A 32(4), 661-669.
2. Bahari, K., H. Mitomo, T. Enjoji, F. Yoshii, and K. Makuuchi. 1998. Radiation crosslinked poly(butylene succinate) foam and its

- biodegradation. *Polym. Degrad. Stabil.* 62, 551-557.
3. Briese, B. H., D. Jendrossek, and H. G. Schlegel. 1994. Degradation of poly (3-hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) by aerobic sewage sludge. *FEMS Microbiology Letters* 117, 107-112.
  4. Chiellini, E., A. Corti, A. Giovannini, P. Narducci, A.M. Paparella, and R. Solaro. 1996. Evaluation of biodegradability of poly( $\epsilon$ -caprolactone)/poly(ethylene terephthalate) blends. *J. Environ. Polym. Degrad.* 4, 37-50.
  5. Holt, J. 1993. Bergey's manual of Determinative Bacteriology. 9<sup>th</sup> ed. Williams & Wilkins, Baltimore, Md.
  6. Hsu, S. H. and T. D. Huang. 2000. The susceptibility of poly(ether) urethanes to enzymatic degradation after oxidative treatment. *Polym. Degrad. Stabil.* 67, 171-178.
  7. Huang, S. J. 1995. Polymer waste management-biodegradation, Incineration and recycling. *J. M. S. Pure Appl. Chem.* A 32, 593-597.
  8. Itawa, T. and Y. Doi. 1997. Enzymatic degradation and adsorption on poly[(R)-3-hydroxybutyrate] single crystal with two types of extracellular PHB depolymerase from *Comamonas acidovorans* YM1609 and *Alcaligenes faecalis* T1. *Macromolecules* 30, 5290-5296.
  9. Kawai, F. 1992. Bacterial degradation of acrylic oligomers and polymers. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 39, 302-305.
  10. Kawai, F. 1996. Bacterial degradation of a new polyester, polyethylene glycol-phthalate polyester. *J. Environ. Polym. Degrad.* 4, 21-28.
  11. Kim, J. H., T. H. Park, D. M. Shin, S. H. Lee, and G. Y. Han. 1994. Biodegradable characteristics of starch-filled polyethylene film by fungi. *Kor. J. Biotech. Bioeng.* 9, 412-417.
  12. Kim, M. N. and E. J. Kang. 1995. Biodegradation of poly(3-hydroxybutyrate) by *Penicillium pinophilum*. *Kor. J. Mycol.* 23, 348-353.
  13. Kim, M. N. and A. R. Lee. 1999. Effect of Surface Roughness on Biodegradability of Poly(3-Hydroxybutyrate). *Kor. J. Environ. Biology* 17, 249-255.
  14. Kim, M. N., A. R. Lee, K. H. Lee, I. J. Chin, and J. S. Yoon. 1999. Biodegradability of Poly(3-Hydroxybutyrate) blended with Poly(Ethylene-co-vinyl acetate) or Poly(Ethylene Oxide). *Eur. Polym. J.* 35, 1153-1158.
  15. Kim, M. N., A. R. Lee, J. S. Yoon, and I. J. Chin. 2000. Biodegradation of Biopol<sup>®</sup>, SkyGreen<sup>®</sup> and Mater-Bi<sup>®</sup> by Fungi Isolated from soils. *Eur. Polym. J.* 36, 1677-1685.
  16. Klee Rebezen, R., L. W. Hulshoffpol, and G. Letinga. 1999. The role of benzoate anaerobic degradation trephthalate. *Appl. Environ. Microbiol.* 65, 1161-1167.
  17. Labuschagne, R. B., A. Tonder, and D. Lithauer. 1997. *Flavobacterium odoratum* lipase: Isolation and characterization. *Enzyme Microb. Technol.* 21, 52-58.
  18. Lopez-Illorca, L. V., M. F. Colom Valiente, and C. Gascon. 1993. A Study of biodegradation of starch-plastic films in soil using scanning electron microscopy. *Micron.* 24, 457-463.
  19. Shinohe, T., M. Nojiri, T. Saito, T. Stanislawski, and D. Jendrossek. 1996. Determination of the active site serine of poly(3-hydroxybutyrate) depolymerase of *Pseudomonas lemoignei*(PhaZ5) and of *Alcaligenes faecalis*. *FEMS Microbiology Letters* 141, 103-109.
  20. Shinomiya, M., T. Iwata., K. Kasuya, and Y. Doi. 1997. Cloning of the gene for poly(3-hydroxybutyric acid). *FEMS Microbiology Letters* 154, 89-94.
  21. Tomasi, G., M. Scandola, B. H. Bries, and D. Jendrossek. 1996. Enzymatic degradation of bacterial poly(3-hydroxybutyrate) by depolymerase from *Pseudomonas lemoignei*. *Macromolecules* 29, 507-513.
  22. Torres, A., S. M. Li, S. Roussos, and M. Vert. 1996. Screening of Microorganisms for biodegradation of poly(lactic acid) and lactic acid-containing polymers. *Appl. Environ. Microbiol.* 62, 2393-2397.
  23. Winursito, I. and S. Matsumura. 1996. Biodegradability, hydrolytic degradability, and builder performance in detergent formulations of partially dicarboxylate alginic acid. *J. Environ. Polym. Degrad.* 4, 113-121.
  24. Witt, W., R. J. Müller, and W. D. Deckwer. 1997. Biodegradation behavior and material properties of aliphatic/aromatic polyesters of commercial importance. *J. Environ. Polym. Degrad.* 5, 81-89.

(Received September 1, 2000/Accepted December 9, 2000)

---

**ABSTRACT: Biodegradation Characteristics of Poly-3-hydroxybutyrate, Sky-Green® and Mater-Bi® by Soil Bacteria**

**Ae-Ri Lee and Mal-Nam Kim\***(Department of Biology, Sangmyung University, Seoul 110-743, Korea)

Degradation behavior of the three commercial biodegradable polymers, namely poly(3-hydroxybutyrate) (PHB), Sky-Green® (SG) and Mater-Bi® (MB) was investigated using bacteria isolated from activated sludge and farm soil. Three PHB degrading bacteria, three SG degrading bacteria and one MB degrading bacteria were isolated. The PHB degrading bacteria were identified to be *Flavimonas oryzihabitans*, *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* and *Micrococcus diversus*, while *Pseudomonas vesicularis*, *Pasteurilla multocida* and *Flavobacterium odoratum* were identified as SG degrading bacteria. As for MB, *Pseudomonas vesicularis* was isolated. The shake flask test for 28 days indicated that the rate of biodegradation of PHB, SG and MB in terms of weight loss were about 44~69%, 25~32% and 29% respectively. The surface morphology of PHB, SG and MB films before and after degradation by microorganisms in an activated sludge soil was observed under SEM, demonstrating that the film surface had a very porous structure, and that microorganisms colonized heavily on the film surface. TOC and pH variation as a result of abiotic hydrolysis, or microbial growth in the absence of the polymers were compared to those due to degradation by *F. oryzihabitans*. Abiotic hydrolysis of PHB was three times as fast as that of SG and MB. Addition of yeast extract to the basal liquid medium accelerated the biodegradation of the polymers. Biodegradation of PHB was always faster than that of SG and MB irrespectively of the presence of yeast extract in the basal liquid medium.