

HPLC를 이용한 종이의 생분해 거동 분석

오동근*, 김형진

국민대학교 임산공학과

1. 서론

예로부터 종이는 기록매체, 포장재, 건축자재 등 다양한 용도로 사용되어 왔다. 종이 섬유유의 구성성분인 cellulose, hemicellulose는 높은 미생물 친화성으로 인해 미생물에 쉽게 오염 및 분해 될 수 있다. 그러나 현재까지의 미생물에 대한 종이의 분해거동은 육안적, 물리적 분석이 대부분이며 이러한 방법은 오차 및 시간이 많이 발생하는 단점이 있다. 따라서 본 연구에서는 HPLC를 이용하여 미생물의 성장과 직접적 관련이 있는 유기산을 분석하여 미생물의 성장에 따른 종이의 분해 거동을 평가 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 공시 재료

2.1.1 분해 미생물 선정

본 실험에서는 우수한 cellulose 분해능을 가지는 *Aspergillus niger* 및 *Trichoderma viride*를 실험에 적용하였다.¹⁾

2.1.2 분해 대상 선정

미생물 분해 대상 종이 시료는 다양한 종류의 종이 제품 중 기록 및 기록물 보관 용도로서 대표적으로 사용되는 인쇄용지 및 보존용지를 사용하였다. 또한 순수 cellulose에 대한 미생물 생분해 거동을 비교 분석 하기 위하여 Whatman社의 filter paper No 2를 사용하였으며 보존용지, 인쇄용지, filter paper의 pH 특성은 보존용지 8.7, 인쇄용지 8.0, filter paper 7.4를 나타냈다.

2.2 실험방법

2.2.1 미생물의 접종 및 배양

2.2.1.1 유기산 분석을 위한 미생물의 접종 및 배양

멸균 처리된 시료 200 ml에 전건 섬유 대비 1%의 미생물 배양액을 접종 하였으며 접종이 완료된 시료는 Shaking incubator를 이용하여 회전속도 200 rpm, 온도 27 °C의 조건에서 15일 동안 배양하였다.²⁾

2.2.1.2 기계적 강도 변화 분석을 위한 미생물의 접종 및 배양

유기산 분석과 병행하여 실시한 기계적 강도 특성은 분해 대상 시료를 측정에 적합하게 재단하다. 재단된 종이를 멸균된 petri dish에 위치시키고 전건 섬유 대비 1%의 미생물 배양액을 종이 표면 위에 접종한 후 온도 27±1 °C 조건으로 15일 동안 incubator에서 배양하였다.

2.2.2 HPLC를 이용한 유기산 분석

미생물 분해가 완료된 시료는 GF/C filter를 사용하여 고형분을 제거하고 동결 건조기에서 건조하였다. 동결건조에 의해 제조된 powder를 증류수에 용해하고 미용해 고형분을 0.45 μm pore size의 syringe filter를 이용하여 제거한 후 Table 2의 조건으로 HPLC를 이용하여 시료 내 유기산을 정량 분석하였다.³⁾

Table 1. Operation conditions of HPLC for detecting organic acids generated by biodegradation of papers

Items	Condition
Instrument	Waters
Column	μBondapak C ₁₈ (3.9X300 mm)
Mobile phase	0.1 % phosphoric acid in water
Detector	UV 214 nm
Flow rate	0.2 ml/min

2.2.2.1 유기산 종류에 따른 Retention time (RT) 분석

미생물이 생성하는 다양한 유기산 중 gluconic acid, acetic acid, citric acid 3종을 실험에 적용하였다. 각 유기산의 RT는 gluconic acid에서 2.6 min, acetic acid에서 4.2 min, citric acid에서 6.6 min 부근에서 검출되었다.

2.2.3 종이의 물리적 특성 분석

물리적 특성 평가는 ISO 표준 시험법에 의거하여 인장강도, 내절도를 분석하여 미생물에 의한 종이의 특성 변화를 분석하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 지중에 따른 미생물의 유기산 생성 특성

Fig. 2는 ASN에 의한 보존용지, 인쇄용지, filter paper의 유기산 생성 특성 결과이며 유기산 생성 특성 결과를 좀 더 명확하게 분석하기 위하여 유기산 생성량을 분해기간으로 나누어 분해 속도를 산출하여 Fig. 3에 도시하였다. Filter paper는 ASN 접종 후 7일째에 유기산 생성이 가장 높게 나타났다. Filter paper의 분해속도는 0.547 mg/day로 가장 높게 나타났으며 보존용지의 분해속도는 0.487 mg/day, 인쇄용지는 0.495 mg/day로 측정되어 filter paper 보다 보존용지 및 인쇄용지의 분해속도가 비교적 낮게 나타났다. 이러한 결과는 종이의 pH 특성에 의한 것으로 사료된다.

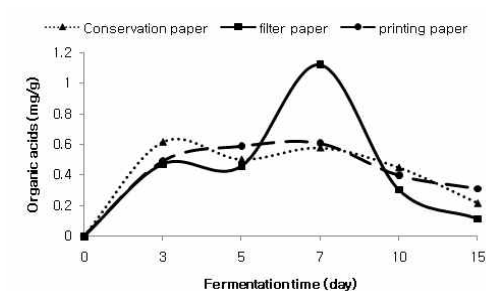


Fig. 1. Content of organic acids by ASN according to fermentation time.

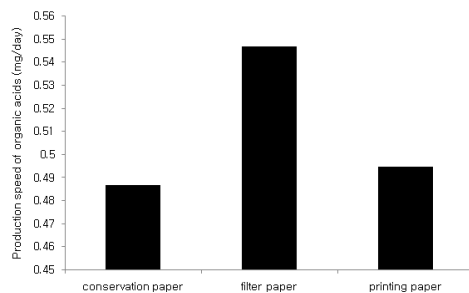


Fig. 2. Biodegradation speed of paper (ASN)

Fig. 4는 TRV에 의한 보존용지, 인쇄용지, filter paper의 유기산 생성 특성 결과를 나타냈으며, 유기산 생성 특성 결과를 좀 더 명확하게 분석하기 위하여 유기산 생성량을 분해기간으로 나누어 분해 속도를 산출하여 그 결과를 Fig. 5에 도시하였다. ASN과 달리 TRV는 인쇄용지에서 분해 속도가 0.953 mg/day으로 가장 높게 나타났으며 filter paper 0.430 mg/day, 보존용지가 0.408 mg/day로 보존용지가 가장 낮은 분해속도를 나타냈다. 이와 같은 결과는 TRV의 효소가 인쇄용지의 pH 범위에서도 효소의 활성이 유지되어 분해속도가 높게 나타낸 것으로 판단된다. 보존용지의 경우 높은 pH 특성으로 ASN과 TRV에 의한 분해속도가 낮은 것으로 사료된다.

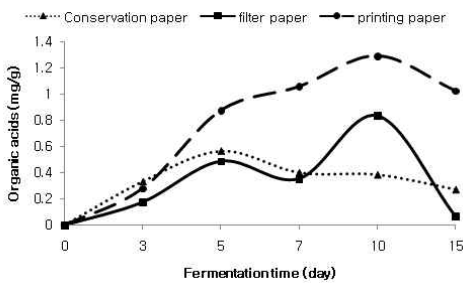


Fig. 3. Content of organic acids by TRV according to fermentation time.

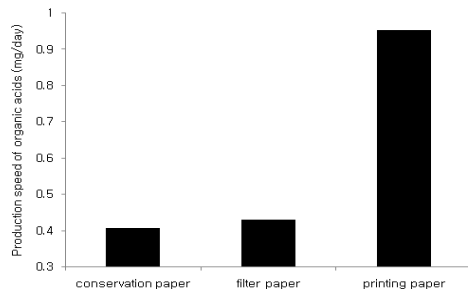


Fig. 4. Biodegradation speed of paper. (TRV)

3.2 미생물 분해에 따른 종이의 기계적 강도 특성 변화

3.2.1 미생물의 분해기간이 인장강도에 미치는 영향

Fig. 5와 Fig. 6은 ASN 및 TRV에 의한 종이의 인장강도 감소 거동을 나타낸 결과이다. ASN의 경우 인장강도 감소율은 보존용지에서 14 %로 가장 낮게 나타났으며, filter paper에서 47 %로 가장 높게 나타났다. TRV에 의한 인장강도 감소율은 보존용지가 10 %로 가장 낮았으며, 인쇄용지의 인장강도 감소율이 36 %로 가장 높았다.

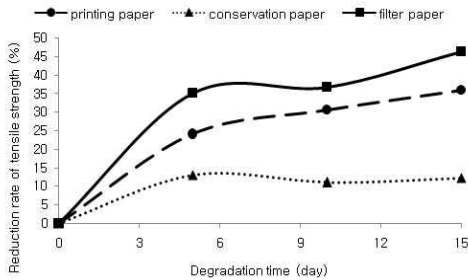


Fig. 5. Reduction rate of tensile strength according to biodegradation time by ASN.

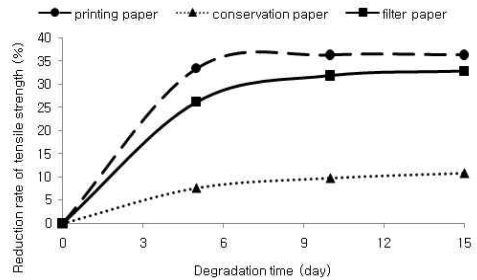


Fig. 6. Reduction rate of tensile strength according to biodegradation time by TRV.

이러한 결과는 ASN 및 TRV 효소의 활성 pH 차이에 의한 것으로 판단된다. ASN 효소의 활성 pH는 7로서 보존용지 및 복사용지에서 높은 pH 특성에 의해 효소의 활성이 저해된 것으로 판단되며 TRV 효소의 활성 pH는 4~8로 ASN과 달리 인쇄용지의 pH에서도 효소가 안정성을 유지하기 때문에 나타난 결과로 사료된다.⁴⁾

3.2.2 미생물의 분해기간이 내절도에 미치는 영향

Fig. 7과 Fig. 8은 ASN 및 TRV에 의한 종이의 내절도 감소 거동을 나타낸 결과이다. ASN의 경우 내절도 감소율은 보존용지에서 내절도 감소가 14 %로 가장 낮게 나타났으며, filter paper에서 감소폭이 70 %로 가장 높게 나타났다. TRV에 의한 인장강도 감소율은 인쇄용지에서 80 % 정도의 가장 높은 내절도 감소율을 나타냈으며, 보존용지에서는 내절도 감소가 40 % 정도로서 가장 낮게 나타났다.

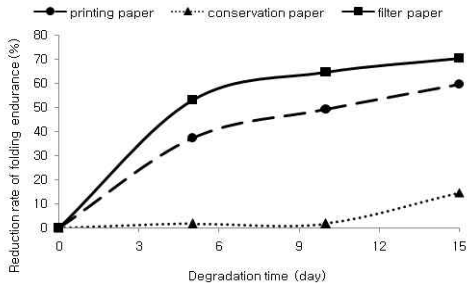


Fig. 7. Reduction rate of folding endurance according to biodegradation time by ASN.

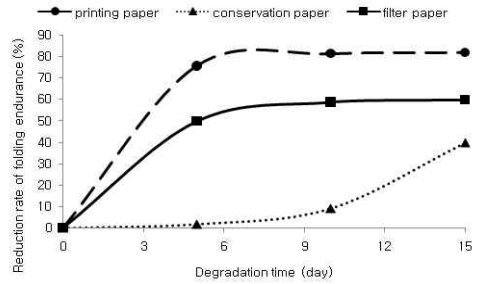


Fig. 8. Reduction rate of folding endurance according to biodegradation time by TRV.

4. 결론

본 연구에서는 물리적 분석의 단점을 보완하고자 물리적 분석과 미생물의 대사산물 분석을 병행하여 미생물의 분해 특성을 분석하였으며 그 결과 종이의 미생물에 의한 유기산 생성 특성 및 기계적 강도 감소 특성은 ASN 및 TRV에서 유사한 특성을 나타냈다. 따라서 종이에 대한 미생물의 생분해 거동을 물리적 분석 이외에도 미생물에 의한 유기산 생성 특성을 통해 분석 할 수 있을 것으로 사료된다.

5. 참고문헌

1. 이영무, 동산문화재 보존환경 시스템 개발에 관한 연구 (2006).
2. 수보취찬드라, 라자세카르 레디, 최용락, 액체와 고체 발효 조건에서 *Aspergillus niger*의 셀룰로오스계 효소 생산, Journal of Life Science 18(8) : p1049-1052 (2008).
3. 박수진, 정용면, 최미경, 김양길, 김정근, 김경호, 강명화, 건조방법을 달리한 보리 잎의 이화학적 특성, J. Korea SOC. Food sci. Nutr. 37(1) : p60-65 (2008).
4. G.khan CORAL*, Burhan ARIKAN, M. Nisa ÜNALDI, Hatice GÜVENMEZ, Some Properties of Crude Carboxymethyl Cellulase of *Aspergillus niger* Z10 Wild-Type Strain, Turk. J. Biol., 26 : p209-213 (2002).