

Carrageenan 필름의 미생물에 의한 생분해도 측정

강성국 · 정순택* · 박현진 · 임종환
목포대학교 식품공학과

The Biodegradability of Carrageenan-based Film by Microorganisms

Seong Gook Kang, Soon-Teck Jung*, Hyun Jin Park and Jong Whan Rhim
Mokpo National University, Department Food Engineering, Chonnam 534-729

Abstract — Degradation of κ -carrageenan-based film by microorganisms screened from carrageenan source and activated sludge of a carrageenan producing factory was investigated by measuring changes of pH, viscosity, total sugar and total organic carbon (TOC) of the medium containing κ -carrageenan as a carbon source. Initially fifteen strains of microorganism were isolated from carrageenan source and activated sludge and then three organisms among them were selected based on the ability of growing in the medium including 0.3% κ -carrageenan as a sole carbon source. They were identified as *Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus niger*. As indices of biodegradability of κ -carrageenan based film, the changes of pH, viscosity, total sugar, and TOC of the carrageenan film-based medium were tested by the cultivation of single or mixed strains of the identified organisms. Mixed culture showed the highest biodegradability, which resulted in the changes of pH from 6.5 to 3.0, viscosity from 164 cps to 15.6 cps, total sugar content from 2.35 g/l to 0.53 g/l and TOC from 5721 ppm to 232 ppm after 30 days of cultivation. The biodegradability determined as the reduction rate of TOC by pure cultures of *Asp. niger*, *E. coli*, *Sacch. cerevisiae* and mixed culture of the three organisms were 94%, 86%, 80% and 96%, respectively.

현재 PE(polyethylene), PP(polypropylene), PVC(polyvinyl chloride), PVDC(polyvinylidene chloride)가 식품포장용 필름으로 널리 이용되고 있다. 이들 합성수지 필름의 대량생산과 장기유통과정에서 미반응 원료성분이나 미중합된 monomer의 잔존과 적성 개선을 위해 사용된 가소제, 안정제, 착색제, 산화방지제, 자외선 흡수제나 유통환경변화에 의한 기질성분의 용출 등에 관한 문제는 상존하고 있으며 특히 폐기되었을 때 이들 범용성 포장재의 난분해성으로 인하여 토양환경을 오염시켜 커다란 공해요인이 되고 있다. 이러한 합성수지 물질의 분해를 위하여 많은 연구가 시도되고 있으나 아직 만족할 만한 결과는 없는 실정이다. 합성수지 필름의 분해성을 증진시키기 위한 방법의 일환으로 polyethylene을 기질로 하여 6~10%(최고 70%)의 전분 또는 섬유소를 충전한 소위 생분괴성 필름이 제조(1,2)되고 있으나 이들은 분

해가 용이한 전분등이 분해될 때 필름에 작은 구멍을 만들어 작은 조각으로 부스러지게 함으로써 폐기물량과 토양오염을 줄일 수는 있으나 남은 합성수지는 여전히 분해가 되지 않은 채 남아 있게 되어 환경문제 해결에는 큰 도움이 되지 못하고 있다. 최근에 이러한 플라스틱 포장재에 의한 환경오염문제가 심각하게 대두되면서 생분해성 소재를 활용하여 폐기 후 자연중에서 분해가 가능한 생분해성 포장재의 개발에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다(3,4). 이러한 생분해성 포장지는 제조방법 및 제조원료에 따라 합성 생고분자 필름, 미생물이 생산하는 고분자 포장지 및 천연 생고분자 포장지가 있다. 생고분자는 그 자체만으로 필름형성능력이 없기 때문에 적합한 가연제나 염을 첨가하여 필름을 제조해야 한다. 따라서 형성된 필름은 본래의 생고분자와 화학적 또는 물리적 성질이 변하게 되며 이와 같은 성질은 제조된 필름의 생분해도에 영향을 미치며 분해능이 좋은 생분해성 필름의 개발을 위해서는 생분해도를 정확하게 평가할 수 있는 방법이 필요하며 특히 표준화된 평가방법의 개발이

Key words: κ -carrageenan-based film, biodegradability, total organic carbon analyzer

*Corresponding author

필요하다. 현재 사용되고 있는 플라스틱 포장재에 대한 생분해성 평가방법은 주로 토양 매립에 의한 물리적 성질의 변화(5, 6), 활성오니를 이용한 BOD의 변화 또는 CO₂ 발생량(7, 8), 특정 미생물과 효소를 이용한 물리적 성질의 변화 또는 분자량의 변화(10-14), 퇴비화 조건에서의 물리적 성질의 변화 또는 CO₂ 발생량(15-17), 혐기적 미생물에 의한 기체발생(18), 가상 매립조건에서의 물리적 성질 변화(19, 20) 등에 의해 평가되고 있다. 그러나 이들 방법은 플라스틱 물질에 대해 주로 적용되어 오던 방법들로서 전분, 단백질 및 해조류 추출물과 같은 생고분자를 원료로한 필름의 생분해성 평가방법은 거의 없는 실정으로 현재 이들의 생분해성 평가를 위해 기존의 플라스틱 필름에 사용된 방법을 그대로 또는 다소 수정하여 적용하고 있으나 이는 많은 문제점을 갖고 있어 새로운 방법의 개발이 필요하다. 최근 플라스틱 필름의 효소에 의한 분해도 측정방법으로 필름을 효소에 작용시켜 필름으로 부터 용액으로 유리된 유기물을 측정하여 분해도를 측정하는 방법으로 TOC analyzer를 이용한 방법이 보고 된 바 있다. 김(21)은 효소를 이용하여 poly(ϵ -caprolactone)과 poly(ethylene terephthalate)의 분해성 평가 연구에서 효소반응 후 플라스틱으로 부터 유리된 total organic carbon을 정량하여 생분해도를 측정한 바 있으며, Tokiwa 등(13)도 *Rhizopus arrhizus* lipase에 의한 polyesters의 가수분해에 대한 보고에서 김과 유사한 방법으로 생분해도를 측정한 바 있으나 미생물에 의한 필름의 완전분해도를 나타내는 지표로서 TOC analyzer를 이용한 연구는 거의 없는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 바닷말중 주로 홍조류에 다량으로 존재하는 carrageenan을 원료로 하여 이를 분해시킬 수 있는 미생물을 선발하고 또한 필름을 제조하여 선발된 미생물에 의하여 분해되는 과정중 pH, 점도, 총당 및 TOC의 변화를 검토하여 생고분자를 원료로 한 생분해성 필름의 생분해도 평가방법으로서의 가능성을 검토코자 하였다.

재료 및 방법

시료

필름 제조용 carrageenan은 전남 순천의 한국 카라젠(주)에서 구입하여 사용하였다.

Film의 제조

생분해도 측정에 사용된 필름은 κ -carrageenan을 2%가 되게 첨가하고 여기에 MgCl₂, CaCl₂, KCl를

각각 0.1%, 그리고 필름의 유연성과 가소성을 부여하기 위하여 polyethyleneglycol 400(PEG 400, Aldrich Chem., USA)과 glycerine(Aldrich Chem., USA)을 각각 0.375%를 증류수에 혼합한 후 약 30분 동안 가열 용해시켜 30×30 cm의 유리판에 균일하게 casting시킨 다음 75°C 건조기에서 12시간 건조한 후 형성된 필름을 유리판으로 부터 떼어내어 상대습도가 50%로 조절된 데시케이터 내에 보관하면서 시료로 사용하였다.

Carrageenan 분해 미생물의 분리 및 선발

Carrageenan 분해능을 갖는 미생물을 선발하기 위하여 carrageenan 제조공장에서 홍조류인 *Eucheuma cottonii*, *Eucheuma spinosum* 및 *Chondrus crispus*, carrageenan 분말, 폐수처리장의 활성오니 및 폐기물처리장에서 균주 분리용 시료를 채취하여 사용하였다. 시료로 부터 미생물의 분리를 위해 Nutrient broth, YM broth 및 Czapek-Dox broth(Difco)를 사용하였으며 채취한 시료를 배지에 적당량 첨가하여 30°C에서 72시간 동안 배양한 후 평판배지로 옮겨 다시 24시간 동안 배양한 후 colony의 형태학적 특성에 따라 분리하였다. 분리된 미생물중 carrageenan 분해능을 갖는 미생물을 분리하기 위하여 0.3% κ -carrageenan, 0.3% NH₄NO₃, 0.1% K₂HPO₄, 0.05% MgSO₄를 첨가한 배지를 제조하여 pH를 6.5로 조절하여 사용하였다. Carrageenan을 제외한 성분을 stock solution으로 하여 필요할 때 carrageenan과 배합하여 배지로 사용하였으며 배지중 탄소원은 carrageenan만을 사용하였다. Carrageenan 생분해력을 갖는 미생물에 의한 생분해성 시험은 carrageenan 배지 300 ml에 전배양액 1 ml를 접종하고 30°C에서 3일 동안 배양한 후 배양액의 pH 변화는 pH meter(Model 520 A, Orion, USA)를 사용하여 측정하고 점도의 변화는 점도계(Brookfield DV-II, Brookfield Engineering Laboratories, INC. USA)를 사용하여 30°C에서 50 rpm으로 spindle No. 1을 사용하여 측정하였다. 또한 밀폐조건에서 미생물을 배양하여 배양 용기내의 gas 조성변화를 gas chromatography(GC)에 의해 공기중 CO₂ 함량에 대한 배양용기중의 CO₂ 함량을 head space방법(22)으로 측정하여 생분해 활성 미생물을 선발하였으며 GC 분석조건은 Table 1과 같다.

균주의 동정

Carrageenan 분해 활성이 우수한 균주를 세균은 Bergey's manual of the determinative bacteriology (23)에 준하여, 효모는 Yeasts: characteristics and

Table 1. Operating conditions of GC for analysis of gas composition

Instrument	HP5890 II
Column	CTR column (Alltech Associates, Inc.)
Detector	TCD
Carrier gas	He
Flow rate	60 ml/min.
Oven temp.	30°C
Injector temp.	150°C
Detector temp.	250°C
Injection volume	100 μ l

identification(24)에 준하여 그리고 곰팡이는 The fungi(25)에 준하여 형태학적, 배양학적 및 생리학적 특성에 따라 동정하였다.

제조된 Film의 생분해도 측정

Carrageenan 기질에 대하여 생분해 활성이 강한 미생물을 선발하여 이들 균주를 단일 또는 혼합 균주로 하여 필름에 대한 생분해도를 측정하였다. Film을 stock solution에 carrageenan 함량 기준으로 0.3% 농도로 용해시키고 30°C에서 30일 동안 배양시키면서 배지의 pH변화, 점도 변화, 총당 및 TOC(total organic carbon)변화를 측정하여 생분해도를 표시하였다. 총당은 phenol sulfuric acid법(26)에 의하여 정량하였다. TOC는 total organic carbon analyzer(TOC 5000, Shimadzu, Japan)를 사용하여 측정하였으며 total carbon(TC) standard로 potassium hydrogen phthalate 2.125 g을 탈염수 1000 ml에 용해시켜 1000 ppm 농도로 조제하였고 inorganic carbon(IC)는 sodium hydrogen carbonate 3.5 g과 sodium carbonate 4.41 g을 혼합하여 탈염수 1000 ml에 용해시켜 1000 ppm으로 조제하여 일정 농도로 희석하여 standard curve를 작성하였다. TOC 농도는 배양액을 membrane filter(cellulose nitrate, pore size 0.45 μ m)로 여과시킨 후 여액을 분석에 적합한 농도로 희석하여 측정하였으며 TC값에서 IC값을 뺀 값으로 표시하였다.

결과 및 고찰

Carrageenan 분해 미생물의 분리

Carrageenan 분해 미생물을 선발하기 위하여 carrageenan 제조공장에서 채취한 시료로부터 미생물의 분리용 배지를 사용하여 30°C에서 72시간 동안 배양

Table 2. Biodegradation activity of the isolated microorganisms in carrageenan medium after 7 day incubation at 30°C

Micro-organism	pH	Viscosity (cps)	Gas composition (%) ¹	
			O ₂	CO ₂
Control ²	6.50	155.6	19.74	0.03
F1	6.87	53.4	8.13	11.87
F2	6.35	141.8	19.80	0.20
F3	6.31	91.6	19.10	0.90
F4	6.32	88.6	18.98	0.24
F5	6.95	54.4	8.34	11.66
F6	5.73	74.0	8.23	11.77
F7	6.29	92.6	19.75	0.25
F8	6.32	96.4	19.77	0.25
F9	5.93	61.6	11.64	8.36
F10	5.52	52.8	5.47	14.53
F11	5.48	48.2	4.31	15.69
F12	6.35	141.2	19.68	0.32
F13	6.34	66.4	18.98	0.24
F14	6.33	96.0	19.31	0.23
F15	3.98	65.4	8.84	11.16

¹analyzed by head space method.

²pH and viscosity of non-inoculated medium; gas composition of the atmospheric air.

한 후 colony의 형태학적 특성에 따라 분리한 결과 15종의 미생물을 분리하였으며 이들중 세균이 9종, 효모가 5종 그리고 곰팡이가 1종임을 확인하였다.

Carrageenan 분해활성 미생물의 선발

분리 균주의 carrageenan 분해활성을 배양액의 pH, 점도 및 gas 조성에 대하여 검토한 결과는 Table 2에 표시한 바와 같다. 배양액의 pH는 초기 6.5에서 F6, F9, F10, F11 및 F15 균주를 사용한 경우 각각 pH 5.87, 5.73, 5.93, 5.52 및 4.98를 나타냈다. 배양액의 점도를 비교해 본 결과 F1, F5, F6, F9, F10, F11, F14 및 F15 균주를 사용했을 때 초기 점도 155.6 cps에 비하여 각각 53.4, 54.4, 74.0, 61.6, 52.8, 66.4 및 65.4 cps를 나타냈다. 또한 밀폐된 vial(150 ml)에 배양한 후 공기의 gas 조성에 대한 배양액 head space 중의 gas 조성의 변화를 검토한 결과 CO₂ 생성능은 F1, F5, F6, F9, F10, F11 및 F15 균주가 공기중 CO₂ 함량 0.0258%에 비하여 11.8659, 11.6640, 11.7741, 8.3604, 14.5275, 15.6947 및 11.1628%를 나타냈다(Table 2). 이상의 결과를 볼 때 F2, F3, F7 및 F8 균주를 제외하고 분리된 대부분의 균주가 carrageenan을 자

화 또는 발효시킬 수 있는 것으로 사료되며 pH, 점도 및 gas 조성변화를 종합하여 검토하여 볼 때 F1, F5, F10, F11 및 F15 균주가 carrageenan 필름에 대한 분해능이 우수한 균주로 생각되어 이들을 carrageenan 필름의 생분해도 측정에 사용하였다.

활성 균주의 동정

Carrageenan 분해능이 우수한 것으로 나타난 5 균주를 형태학적, 배양학적 및 생리학적 특성에 따라 동정한 결과 Table 3~5에 나타난 바와 같이 F1과 F5는 동일종의 효모인 *Saccharomyces cerevisiae*로, F10

Table 3. Morphological, physiological and cultural characteristics of F1 and F5

Morphological characteristics							
Cell shape	round						
Cell size	1.5~3.0 μ						
Reproduction type	budding						
Pseudomycelium	-						
Truemycelium	-						
Ascospore	+						
Assimilation							
glucose	+	galactose	+	sucrose	+	matose	+
lactose	-	arabinose	-	sorbose	-	xylose	-
D-gluconate	-	succinate	+	citrate	-	L-lysine	-
ethylamine	-						
Fermentation							
glucose	+	galactose	+	sucrose	+	maltose	+
lactose	+	raffinose	w	melibiose	-	cellobose	-
Urea hydrolysis							
-							

+; positive, -; negative, w; weak

Table 4. Morphological, physiological and cultural characteristics of F10 and F11

Morphological characteristics							
Shape	short rod			Size	0.5×1.0~1.5 μ		
Motility	gliding			Flagella	peritrichic		
Gram stain	negative						
Cultural characteristics							
Facultative	anaerobic		Color of broth agar		white & Yellowsh white		
Optimum temp.	37°C		Color of endo agar		pink		
Physiological characteristics							
Oxidase	-			Catalase	+		
NO ₃ ⁻ → NO ₂ ⁻	+			Gelatin liquetation	-		
ONPG (β -galactosidase)	+			H ₂ S on TSI	-		
Indole production	+			Tetrathionate reductase	-		
Gas production D-glucose	+			D-galactose	+		
Utilization of Citrate	-			Malonate	-		
Production of acids arabinose	+			inositol	-		
	mannitol			salicin	w		
	sucrose			xylose	w		

+; positive, -; negative, w; weak

Table 5. Morphological, physiological and cultural characteristics of F15

Hyphae	+	Septa	%	Ascospore	-
Perithecium	-	Colonial color	black	Conidial head	black
Conidiophore surface	smooth & granular	Viscle size	80 μ	Sterimata	double
Conidia surface	smooth	Conidia shape arranged in chain	radiated	Conidia size	3~4 μ

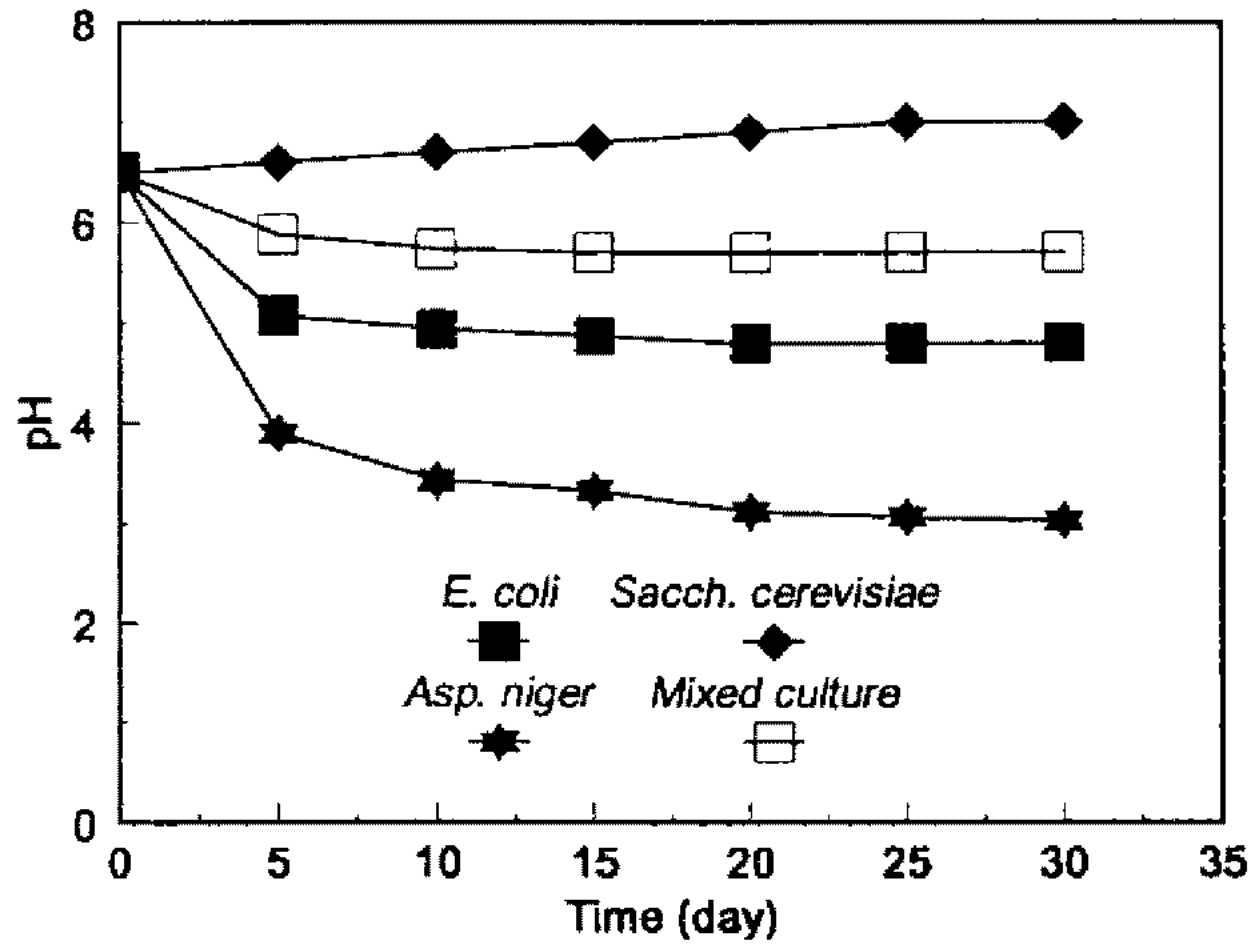


Fig. 1. Changes of pH during degradation procedure of carrageenan-based film by pure and mixed culture.

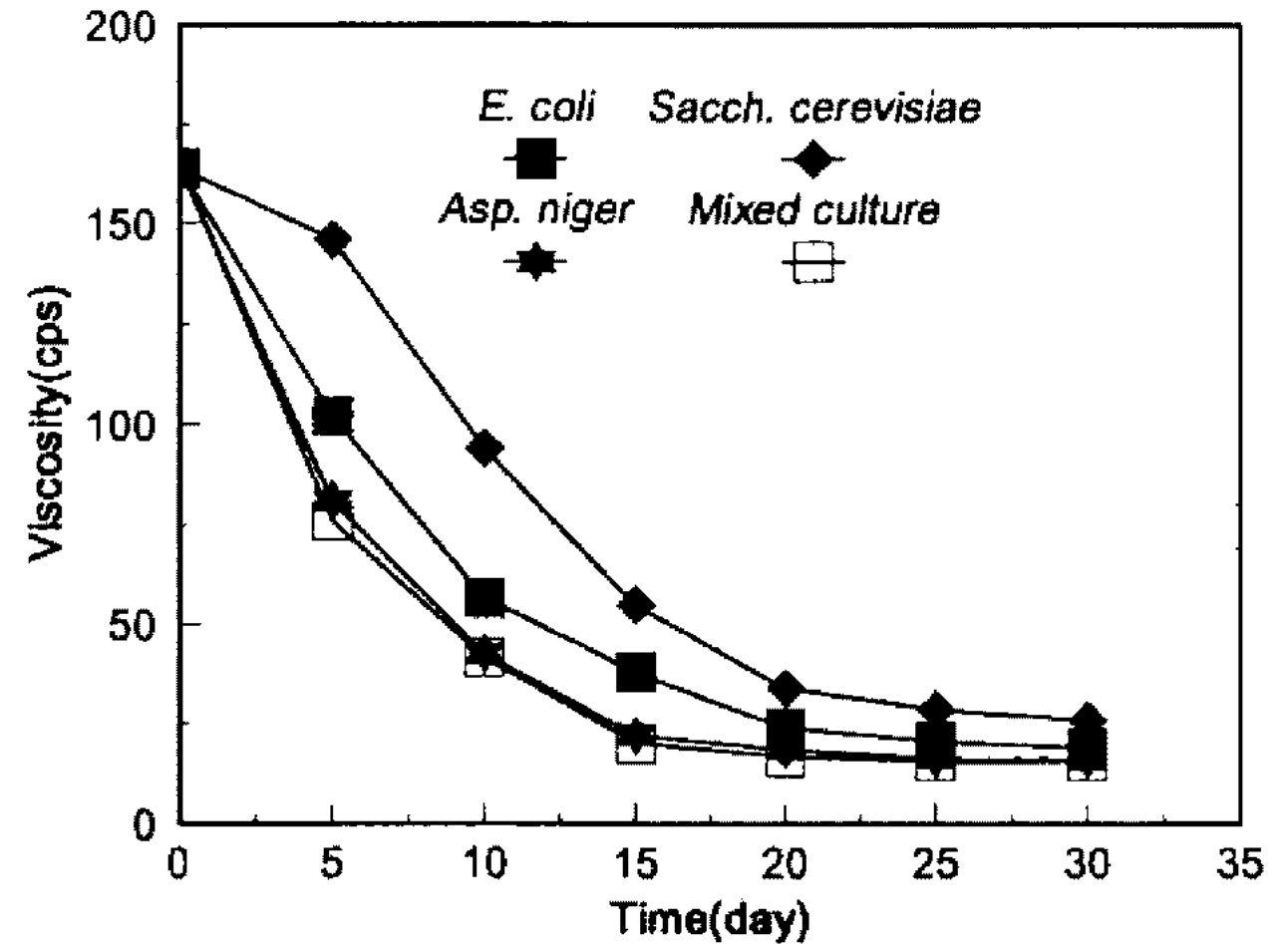


Fig. 2. Changes of viscosity during degradation procedure of carrageenan-based film by pure and mixed culture.

과 F11은 동일종의 세균인 *Escherchia coli*로 그리고 F15는 곰팡이인 *Aspergillus niger*로 각각 확인되었다.

동정 균주에 의한 필름의 생분해도 측정

동정된 균주를 단일 또는 혼합 균주로 하여 30°C에서 30일 동안 배양하면서 pH, 점도, 총당 및 TOC의 변화를 검토하였다. pH의 경우는 Fig. 1에 나타난 바와 같이 초기 pH 6.5에서 *Asp. niger*와 *E. coli*는 배양 초기에 급격히 감소하는 경향을 보였으며 30일째 각각 pH 3.0과 5.11를 나타냈다. *Sacch. cerevisiae*의 경우 오히려 pH가 약간 증가하는 경향을 보였으며 혼합 균주의 경우 *Asp. niger*와 *E. coli*에 비하여 다소 낮은 pH 감소를 보였는데 이는 *Sacch. cerevisiae*의 영향으로 사료된다. 점도의 경우는 Fig. 2에 나타난 바와 같이 미생물에 의해 carrageenan이 분해됨에 따라 전반적으로 점도가 감소하는 경향을 보였다. *Asp. niger*와 혼합균주를 사용한 경우 초기 점도 164 cps에서 배양 15일째 8.5 cps 정도로 급격히 감소하였으며 그 이후는 거의 변화하지 않았다. *Sacch. cerevisiae*를 사용한 경우 초기 5일째까지 서서히 감소하다가 20일째 *Asp. niger*와 비슷한 수준까지 감소하는 경향을 보였다. 이들 미생물에 의한 점도의 감소는 galactose와

3,6-anhydrogalactose가 α-1,4 또는 β-1,4 결합으로 구성된 carrageenan이 일차적으로 미생물이 생산하는 효소에 의하여 저분자의 당으로 분해되고 분해된 당은 미생물의 대사과정중 유기산과 같은 저분자 물질로 분해되는 것에 기인하는 것으로 생각되며, 특히 *Asp. niger*와 *E. coli*의 경우 carrageenan이 pH 4.0 이하에서 gel 형성능이 현저하게 떨어짐을 고려할 때 pH 감소에 따른 점도감소가 현저한 것으로 생각된다. 또한 총당의 변화를 검토한 결과 Fig. 3에서 보는 바와 같이 *E. coli*의 경우 초기 당함량 2.35 g/l에서 5일째까지 서서히 감소하여 1.84 g/l를 보였으며 그 이후 급격히 감소하여 배양 15일째에는 0.85 g/l로 감소하였다. *Sacch. cerevisiae*의 경우는 초기 5일째까지 서서히 감소하다가 그 이후 급격히 감소하여 배양 20일째 0.57 g/l까지 감소하였으며, 한편 *Asp. niger*의 경우 배양초기부터 급격히 감소하여 15일째에는 0.65 g/l까지 감소하는 경향을 보였으며 그 이후에는 서서히 감소하는 경향을 보였다. 혼합균주를 사용한 경우 배양초기 총당의 감소는 *Asp. niger*와 유사한 경향을 보였으나 감소경향은 더욱 현저하게 나타났으며 배양 15일째 0.31 g/l까지 감소하였다. Carragee-

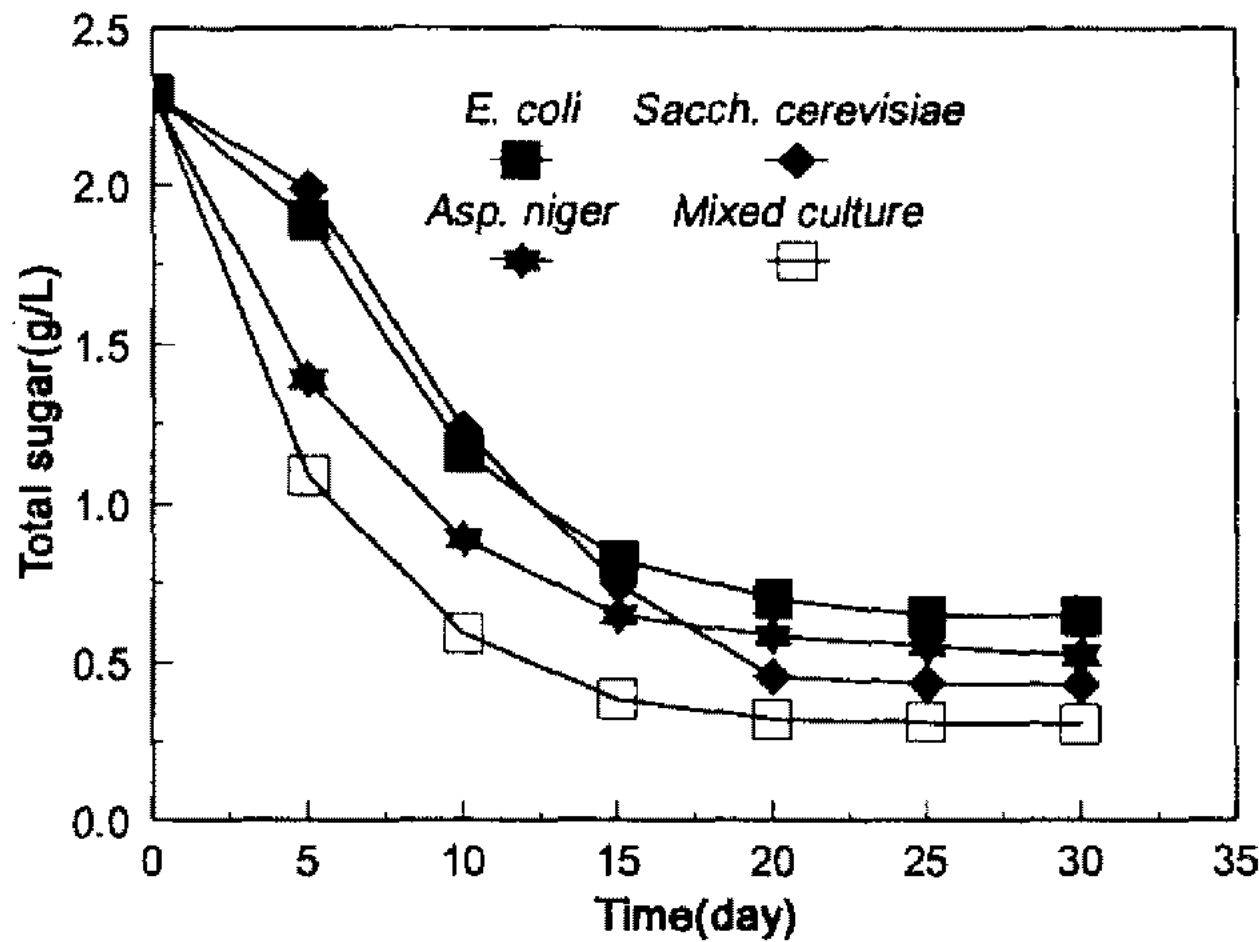


Fig. 3. Changes of total sugar contents during degradation procedure of carrageenan-based film by pure and mixed culture.

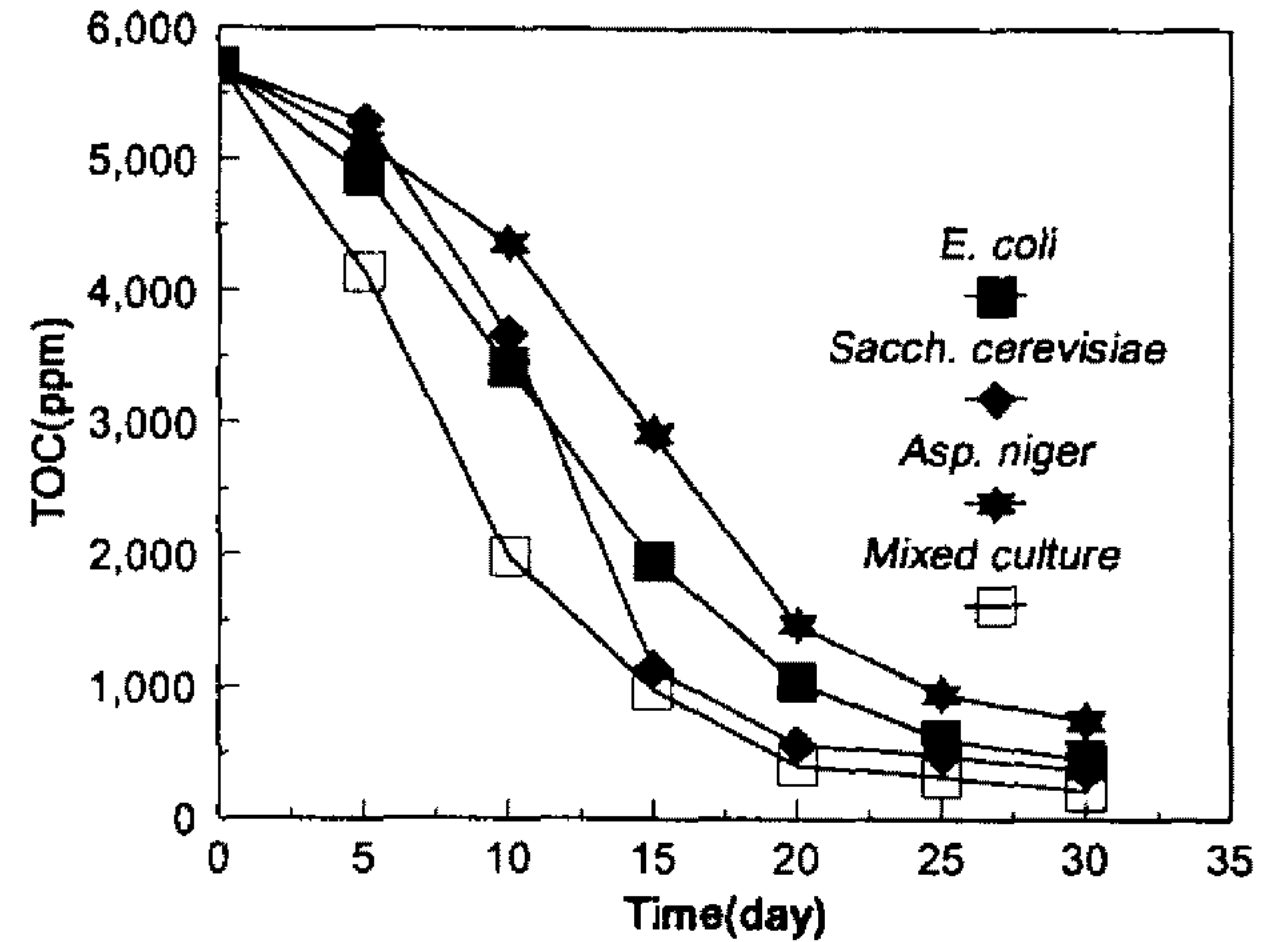


Fig. 4. Changes of TOC concentrations during degradation procedure of carrageenan-based film by pure and mixed culture.

nan에 대한 생분해활성은 혼합균주, *Sacch. cerevisiae*, *Asp. niger* 그리고 *E. coli* 순으로 우수한 것으로 나타났으며 30일 동안 배양한 후 총당감소를 기준으로 생분해율을 측정된 결과 각각 87%, 80%, 77% 및 71%의 분해율을 나타냈다. 혼합균주의 분해율은 균체가 함유한 당함량을 고려할 때 거의 대부분의 carrageenan이 분해된 것으로 사료된다. 사용 미생물에 대하여 TOC 농도변화를 측정하여 필름의 생분해도를 측정된 결과 Fig.4에서 보는 바와 같이 단일균주의 경우 전반적으로 배양초기 서서히 감소하는 경향을 보였으나 배양 5일 이후 *E. coli*는 배양 25일째까지 현저하게 감소하여 30일째 512 ppm까지 감소하는 경향을 보였고 *Sacch. cerevisiae*는 배양 15일째까지 급격히 감소하였으며 그 이후는 완만한 감소를 보여 배양 30일째 428 ppm까지 감소하였으며 *Asp. niger*는 *E. coli*와 유사한 경향을 보였으나 다소 낮은 감소율을 보여 배양 30일째 732 ppm을 보였다. 한편 혼합균주의 경우는 배양초기부터 현저한 감소를 보여 20일째까지 급격히 감소하는 경향을 보였으며 배양 30일째에는 213 ppm까지 감소하였다. *E. coli*, *Sacch. cerevisiae*, *Asp. niger* 그리고 혼합균주에 의한 생분해율을 초기 TOC 농도 5722 ppm에 대해 계산한 결과 각각 91%, 93%, 87% 및 96%를 보였다. 총당과 TOC 농도의 변화에 따른 분해율을 비교할 때 이론적으로 총당농도 감소에 따른 분해율이 TOC 농도 감소에 의한 분해율보다 더 높은 결과를 보여야 한다. 대부분의 미생물은 당을 분해하여 유기산과 같은 저분자 물질로 축적하는 경향이 있다. 그러나 본 연구결과에서는 TOC 농도 감소에 따른 분해율이 총당농도 감소에 의한 분해율보다 더 높은 결과를 나타내 특이함을 보였다. 이에 관해서는 앞으로 많은 검토가

필요할 것으로 생각된다.

이상의 결과를 종합하여 볼 때 carrageenan과 같은 다당류를 원료로 한 필름의 생분해도를 측정하는 방법으로 pH 변화의 측정은 미생물에 따라 감소 또는 증가하는 경향을 보여 생분해도 측정을 위한 표준방법으로 사용하기에는 부적합한 방법으로 생각되며, 점도변화를 이용한 방법은 비교적 간단하게 생분해도를 측정할 수 있는 방법이나 완전분해도를 나타낼 수 있는 지표로는 미흡한 방법으로 생각된다. 총당과 TOC 농도의 감소에 의한 생분해도 측정방법은 다당류를 원료로 한 생분해성 필름의 생분해도를 측정하는 방법으로써 기존의 토양 매립방법, 배양중 발생하는 CO₂를 측정하는 방법, 필름의 중량감소를 측정하는 방법에 비하여 간단하면서도 완전분해도를 나타내는 지표로 사용할 수 있는 우수한 방법으로 생각된다. 특히 생고분자 필름에 대해 미생물을 이용한 기존의 생분해도 측정방법(7-18)은 대부분 기질이 미생물에 의해 분해될 때 생성되는 CO₂와 CH₄의 양을 측정하여 나타내거나 분해되고 남은 기질의 양을 측정하거나 또는 물리적 성질의 변화를 측정하는 방법으로 필름의 완전분해도를 나타내는 지표로는 부족하다. 그러나 TOC analyzer를 이용한 방법은 미생물에 의해 기질로부터 생성된 gas와 휘발성분등이 제외된 기질중의 유기탄소를 측정하는 방법으로 재현성이 뛰어나며 생분해성 필름의 분해정도를 나타내는 지표로서 손색이 없는 우수한 방법으로 생각된다.

요 약

해조류중 홍조류에 다량으로 존재하는 다당류의 일종인 carrageenan을 이용하여 생분해성 필름을 제

조하기 위한 기초자료로 생분해도 평가방법을 확립하기 위하여 carrageenan 제조공장에서 carrageenan 원료, 원료 carrageenan 분말, 폐수처리장의 활성오니 및 폐기물로 부터 carrageenan 분해 미생물을 선발하고 분해활성이 우수한 미생물을 이용하여 필름 배양액의 pH 변화, 점도의 변화, 총당 및 TOC의 변화를 측정하여 생분해도의 지표로 사용코자 하였다.

채취 시료로 부터 세균 9종, 효모 5종 및 곰팡이 1종을 분리하였다. 분리미생물을 carrageenan 배지를 이용하여 pH, 점도 및 gas 조성의 변화를 측정하여 분해활성을 검토한 결과 3종의 미생물이 우수한 분해활성을 나타냈으며, 이들 미생물은 *E. coli*, *Sacch. cerevisiae* 및 *Asp. niger*로 확인되었다. 또한 동정된 균주를 단일 또는 혼합 균주로 하여 30°C에서 30일 동안 배양하면서 pH, 점도 및 총당의 변화를 검토한 결과 pH의 경우 초기 pH 6.5에서 *Asp. niger*와 *E. coli*는 배양 30일째 각각 pH 3.0과 4.75까지 감소하는 경향을 보였으나 *Sacch. cerevisiae*는 오히려 pH가 증가하는 경향을 보였으며 혼합균주의 경우 약간의 감소를 보였다. 점도의 경우 *Asp. niger*와 혼합균주의 경우 초기 점도 164.0 cps에서 배양 15일째 17.2 cps 정도로 급격히 감소였으며 그 이후는 거의 변화하지 않았다. *Sacch. cerevisiae*의 경우 초기 5일째까지 150.1 cps로 서서히 감소하다가 20일째 *Asp. niger*와 비슷한 수준까지 감소하는 경향을 보였다. 총당의 변화를 검토한 결과 *E. coli*와 *Sacch. cerevisiae*의 경우는 초기 5일째까지 서서히 감소하다가 그 이후 급격히 감소하는 경향을 보였으나 *Asp. niger*와 혼합균주의 경우 배양초기부터 현저하게 감소하는 경향을 보였다. 사용 미생물의 생분해 활성은 혼합균주, *Sacch. cerevisiae*, *Asp. niger* 그리고 *E. coli* 순으로 우수하였으며 30일 동안 배양한 후 총당감소를 기준으로 생분해율을 측정한 결과 각각 87%, 80%, 77% 및 71%의 분해율을 나타냈다. TOC 농도 변화에 의한 생분해도 측정 결과 단일균주의 경우 전반적으로 배양초기에는 서서히 감소하다가 배양 5일 이후부터 현저하게 감소하여 20일 이후에는 균주에 따라 다소 차이는 있으나 완만한 감소 경향을 보였고 혼합균주의 경우는 배양초기부터 현저한 감소를 보여 20일째까지 급격히 감소하는 경향을 보였으며 이후 완만한 감소를 보였다. *E. coli*, *Sacch. cerevisiae*, *Asp. niger* 그리고 혼합균주에 의한 생분해율은 각각 91%, 93%, 87% 및 96%를 나타내 carrageenan 필름은 실험조건에서 배양 30일만에 거의 대부분 분해됨을 알 수 있었다.

참고문헌

1. Maddever, W.J. and Chapman, G.M. 1989. Additives-modified starch based biodegradable plastics. *Plast. Eng.* **45**(7): 31.
2. Otey, F.H., R.P. Westhoff and W.M. Doane. 1987. Starch-based blown films 2., *I & EC Research* **26**: 1659-1663.
3. Park, H.J. and Chinnn. M.S. 1995. Gas and vapor barrier properties of edible films from protein and cellulosic materials. *J. of Food Engineering*, **25**: 497-507.
4. 박현진, 임종환, 정순택, 강성국, 황금택, 박양균, 1995. 카라기난 생고분자 필름의 기계적 물성에 관한 연구. *한국포장학회지* **1**: 38-50.
5. Goheen, S.M. and R.P. Wool. 1991. Degradation of polyethylene-starch blends in soils. *J. Appl. poly. Sci.* **42**: 2691-2701.
6. Yakabe, Y., K. Nohara, T. Hara, and Y. Fujino. 1992. Factors affecting the biodegradability of biodegradable polyester in soil. *Chemosphere* **25**: 1879-1888.
7. ASTM D5209-92, 1992. Standard test method for determining the aerobic biodegradation of plastic materials in the presence of municipal sewage sludge. *Annual Book of ASTM Standards*, Vol. 08, 03., American Society for Testing and Materials. Philadelphia, USA.
8. ASTM D5271-92, 1992. Standard test method for assessing the aerobic biodegradation of plastic materials in a activated-sludge-waste water-treatment system. *Annual book of ASTM Standards*, Vol. 08, 03., American Society for Testing and Materials. Philadelphia, USA.
9. Fields, R.D., P. Rodriguez, and R.K. Finn. 1974. Microbial degradation of polyesters; polycaprolactone degraded by *P. pullulans*. *J. Appl. Poly. Sci.* **18**: 3571-3579.
10. Lee, B.T., A.L. Pometto III, and A. Fratzke. 1991. Biodegradation of degradable plastic polyethylene by *Phanerochaete* and *Streptomyces* species. *Appl. Environ. Microbiol.* **57**: 678-685.
11. Cacciari, I., P. Quatrini, G. Zirletta, E. Mincione, V. Vinciguerra, and P. Lupattelli. 1993. Isotactic polypropylene biodegradation by a microbial community: physicochemical characterization of metabolites produced. *Appl. Environ. Microbiol.* **59**: 3695-3700.
12. Tokiwa, Y. and T. Suzuki. 1981. Hydrolysis of copolyesters containing aromatic and aliphatic ester blocks by lipase. *J. Appl. Poly. Sci.* **26**: 441-448.
13. Tokiwa, Y. and T. Suzuki, and K. Taketa. 1986. Hydrolysis of polyesters by *Rizopus arrhizus* lipase. *Agric. Biol. Chem.* **50**: 1323-1325.
14. Allenza, P., J. Scholimeyer, and R.P. Rohrbach. 1989. Evaluating biodegradable plastics with in

- vitro enzyme assay: additives which accelerate the rate of biodegradation. In Barenberg, S.A. J.L. Brash, R. Narayan, and A.E. Redpath (eds.), *Degradable Materials: Perspectives, Issues, and Opportunities*, The first international scientific consensus workshop proceedings. CRC press, Boca Raton, USA.
15. ASTM D5338-92, 1992. Standard test method for determining the aerobic biodegradation of plastic materials under controlled composting conditions. *Annual book of ASTM Standards*, Vol. 08. 03., American Society for Testing and Materials, Philadelphia, USA.
 16. Gilmore, D.F., S. Antoun, R.W. Lenz, S. Goodwin, R. Austin, and R.C. Fuller. 1992. The fate of biodegradable plastics in municipal leaf compost. *J. Indust. Microbiol.* **10**: 199-206.
 17. Johnson, K.E., A.L. Pometto III, and Z. Nikolve. 1993. Degradation of degradable starch-polyethylene plastics in a compost environment. *Appl. Environ. Microbiol.* **59**: 1155-1161.
 18. ASTM D5210-91, 1991. Standard test method for determining the aerobic biodegradation of plastic materials in the presence on municipal sewage sludge. *Annual book of ASTM Standards*, Vol. 08. 03., American Society for Testing and Materials, Philadelphia, USA.
 19. Breslin, V.T. 1993. Degradation of starch-plastic composites in a municipal solid waste landfill. *J. Environ. Polym. Degrad.* **1**: 127-141.
 20. McCarthy, S.P., M. Gada, G.P. Smith, V. Tolland, B. Press, D. Eberiel, C. Bruell, and R.A. Gross. 1992. The accelerated biodegradability of plastic materials in simulated compost and landfill environments. *ANTEC'92*: 816-818.
 21. 김연철. 1993. 효소, 곰팡이 및 토양에 의한 poly(ϵ -caprolactone)과 poly(ethylene terephthalate)의 분해성 평가. 한국과학기술원 석사학위 논문.
 22. Banks, V.H. and Kays, S.J. 1988. Measuring internal gases and lenticel resistance to gas diffusion in potato tubers. *J. Amer. Hort. Sci.* **113**: 577-580.
 23. Buchanan, R.E., Gibbons, N.E., Cowan, S.T., Holt, J.G., Liston, J., Merray, R.G.E., Niven, A.W. and Stainer, R.Y. (eds). 1974. "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology". Williams and Wilkins Co., Baltimore, Maryland.
 24. J.A. Barnett, R.W. Payne and D. Yarrow. 1983. "Yeasts; Characteristics and Identification". Cambridge Univ. Press, London.
 25. Ainswoth, G.C., Sparrow, F.K. and Sussman, A.S. (eds). 1973. "The Fungi", Academic Press, New York.
 26. 주현규 외 5인. 1995. 식품분석법, 유림출판사. Pp. 264.

(Received 10 August 1995)