

Poly(L-lactide) 분해 세균의 분리 및 활성 증진

김 말 남* · 박 상 태

상명대학교 생물학과

Isolation of a Poly(L-lactide) Degrading Bacterium and Improvement of its Degradation Capacity

Mal Nam Kim* and Sang Tae Park

Department of Biology, Sangmyung University, Seoul 110-743, Korea

Abstract – A thermophilic bacterium capable of poly(L-lactide)(PLLA) degradation was isolated from cultivating soil in Korea. The isolate was Gram positive rod-shaped bacterium, and was identified as *Geobacillus caldoxylosilyticus* based on the 16S rDNA sequence analysis. The strain proved to be a new PLLA degrading bacterium which has not been reported in the open literatures yet. The degradation activity of the strain was assessed in a sterilized compost inoculated with the strain under controlled compost condition at 58°C for 40 days. The strain mineralized 66%, 57%, 41% and 40% of PLLA5000, PLLA11000, PLLA34000 and PLLA256000 whose weight average molecular weights were 5000, 11000, 34000 and 256000, respectively. Incorporation of 0.1% each of gelatin, yeast extract and ammonium sulfate in the compost containing PLLA-256000 as a nutritional supplement raised the biodegradation activity by 27%, 13% and 10%, respectively. Increase of the inoculum size from 10^9 cfu g⁻¹ to 10^{10} cfu g⁻¹ and 10^{11} cfu g⁻¹ also enhanced the biodegradation activity by 14% and 20%, respectively.

Key words : PLLA, biodegradation, *Geobacillus caldoxylosilyticus*, activator

서 론

합성 고분자는 뛰어난 기계적 물성과 저렴한 가격 및 높은 안정성을 가지고 있기 때문에 생활용품 뿐만 아니라 산업 전반에 걸쳐 널리 사용되어 왔다. 그러나 이들은 사용 후 폐기되었을 때 자연환경 내에서 자가분해되지 않고 반영구적으로 남기 때문에 환경 미관 보호와 고형 폐기물 처리의 측면에서 많은 문제를 제기하고 있다(Uchida *et al.* 2000; Sakai *et al.* 2001).

Poly(L-lactide)(PLLA)는 감자와 옥수수 전분과 같은 재생 가능한 자원으로부터 원료물질이 생산되는 생분해성 플라스틱으로 물리적 특성이 뛰어나 polypropylene과 유사한 기계적 강도를 나타내기 때문에 광범위한 용도로 사용될 수 있는 생분해성 플라스틱이다. PLLA는 가장 경쟁력이 높은 생분해성 플라스틱 중의 하나임에도 불구하고 자연에서 PLLA를 분해할 수 있는 미생물이 극히 제한적이기 때문에 PLLA가 자연환경 내에 매몰되더라도 수년간 분해되지 않고 축적되는 경우가 빈번히 발생하고 있다(Nakamura *et al.* 2001).

PLLA 분해 미생물에 대한 최초의 연구는 Torres *et al.* (1996)이 11종의 사상형 진균을 대상으로 28°C에서 D,

*Corresponding author: Mal Nam Kim, Tel. 02-2287-5150,
Fax. 02-2287-0070, E-mail. mnkim@smu.ac.kr

L-lactic acid 및 분자량 1000인 수용성 racemic PLLA oligomer를 대사할 수 있는 *Fusarium moniliforme*와 *Penicillium roqueforti*를 분리한 것이다. 현재까지 보고된 PLLA 분해균의 수는 매우 적으며, *Pseudonocardiaceae* 과에 속하는 일부 방선균과 *Bacillus*속에 속하는 극소수의 세균 만이 보고되었다. Pranamuda *et al.* (1997)은 일본 Tsukuba시의 다양한 지역에서 채집한 45개 토양에서 PLLA 분해 방선균인 *Amycolatopsis* sp.를 분리하였다. Pranamuda and Tokiwa (1999)는 *Amycolatopsis* 표준균주 25주로부터 PLLA 평판배지에서 투명대를 형성하는 15주를 확인하였으며, 이를 통하여 *Amycolatopsis*속에 PLLA 분해균이 분포함을 밝혔다. Tomita *et al.* (1999)은 일본 Kanagawa현에서 수집한 144개 토양시료를 PLLA 필름(Mn=45,000)을 포함된 강화배지 60°C에서 배양하여 TOC의 감소와 GPC로 분석하여 PLLA 분해 고온균인 *Bacillus brevis*를 분리하였다. Nakamura *et al.* (2001)은 다양한 출처의 300여개 토양시료에서 *Amycolatopsis* 속 두 주를 분리하고 PLLA depolymerase를 정제하여 효소학적 분석을 하였다. Sakai *et al.* (2001)은 음식물쓰레기 발효조에서 분리한 고온성 PLLA 분해세균 *Bacillus smithii*이 고분자량 PLLA를 3일 동안에 35.6% 분해 하였다고 보고하였다. Jarerat *et al.* (2002)은 PLLA 분해 활성이 있다고 보고된 방선균 표준균주들을 대상으로 최적온도에서 30일간 clear zone test로 방선균 내에서 PLLA 분해자의 계통유전학적인 위치를 조사하였을 때 PLLA 분해자들이 *Amycolatopsis*, *Saccharothrix*, *Lentzea*, *Kibdelosporangium* 및 *Streptoalloteichus*속 등에 존재하여, PLLA 분해자는 *Pseudonocardiaceae*과에 제한적으로 존재함을 밝혔다. Teeraphatpornchai *et al.* (2003)은 일본 내의 다양한 지점으로부터 수집한 토양을 30°C에서 배양하여 직경 5 mm 이상의 투명대를 갖는 중온균 *Paenibacillus amylolyticus*를 분리하여 PLLA 뿐만아니라 다른 종류의 지방족 polyester에 대해서도 분해활성을 나타낸다고 보고하였다. Tomita *et al.* (2004)은 153개의 토양시료로부터 60°C에서 PLLA 필름을 분해하는 *Geobacillus thermocatenulatus*를 분리하였다.

PLLA 분해균에 대한 연구는 방선균에 많이 집중되어 있고, 방선균 중에서도 주로 *Amycolatopsis* 및 *Saccharothrix*속에 한정되어 있으며, *Bacillus*속 세균에 대한 연구는 상대적으로 적은 편이다.

본 연구에서는 PLLA 분해 세균을 우리나라 토양에서 분리하고 분해활성을 증진시킬 수 있는 활성제를 조사하였다. PLLA 분해 세균의 분리와 활성 증진은 향후 사용 범위가 넓어질 것으로 전망되는 PLLA가 자연환경 내에 축적되어 야기될 수 있는 환경오염 문제를 생물학

Table 1. Composition of basal salt medium

Component	Amount
K ₂ HPO ₄	2.34 g
KH ₂ PO ₄	1.33 g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.2 g
(NH ₄) ₂ SO ₄	1 g
NaCl	0.5 g
Yeast extract	0.06 g
Trace element solution ^a	1 mL
Distilled water	q.s.p. 1 L

^aCoCl₂ 11.9 mg, NiCl₂ 11.8 mg, CrCl₂ 6.3 mg, CuSO₄ 15.7 mg, FeCl₃ 0.97 g, CaCl₂ 0.78 g, MnCl₂ 10.0 mg L⁻¹

적 복원을 통하여 개선하는데 도움을 줄 수 있을 것이다.

재료 및 방법

1. 배지의 제조

PLLA 분해 세균의 선발에 사용한 액체강화배지는 Uchida *et al.* (2000)의 방법에 따라 (NH₄)₂SO₄ 4 g, K₂HPO₄ 2 g, KH₂PO₄ 1 g, MgSO₄ · 7H₂O 0.5 g 및 yeast extract 0.06 g을 중류수 1 L에 용해시켜 제조하고 최종 pH를 7.0으로 조정하였다. PLLA 평판배지는 PLLA 1 g을 40 mL의 dichloromethane에 용해한 후 0.1 g의 Plysurf A210G가 포함된 1 L의 무기염배지 (Table 1)에 넣고 분산시킨 다음 agar 15 g을 첨가하여 평판배지를 제조하였다.

2. PLLA 분해 세균의 분리

분해 세균의 분리는 Itävaara *et al.*의 방법 (2002)을 변형하여 수행하였다. 경복 상주시의 경작토 10 g을 멸균 중류수에 넣고 교반한 후 혼합액을 정치시켰다. 상층액 0.5 mL를 액체강화배지에 접종하고, PLLA256000 50 mg을 액체강화배지에 첨가한 후, 27, 37 및 58°C에서 7일간 배양하는 과정을 수회 반복하였다. 배양액 0.1 mL를 취하여 PLLA 평판배지에 도말하고 clear zone test를 실시하여 투명대를 형성하는 균을 PLLA 분해 세균으로 판정하였다.

3. 분해 세균의 분자생물학적 분류동정

분해 세균의 16S rDNA를 universal primers fD1과 rP2을 사용하여 증폭한 후 동정에 사용하였다. 분석한 염기서열은 분해 세균의 속을 대표하는 균주와 함께 CLUSTAL W program으로 정렬하고 계통수는 neighbor-joining method의 MEGA version 3.1 (Kumar *et al.* 2004)을 사용하여 작성하였다.

Table 2. Characteristics of PLLA specimens

Sample code	Mn ^a	Mw ^b	Remarks	Sample type
PLLA5000	2,400	5,000	Polycondensation time: 8h	Powder
PLLA11000	4,000	11,000	Polycondensation time: 22h	Powder
PLLA34000	6,100	34,000	Polycondensation time: 40h	Powder
PLLA256000	142,000	256,000	Commercial product	Film

^aNumber average molecular weight; ^bWeight average molecular weight

4. 분해 세균의 PLLA 분해활성 측정

조절화된 퇴비화조건에서 플라스틱의 호기적 생분해도를 평가하는 방법 (KS M3100-1:2002; MOD ISO 14855:1999)에 따라 58°C에서 40일간 실험하여 생분해활성을 측정하였다. 숙성 퇴비는 121°C에서 30분간 멸균하고, 이 멸균퇴비 200 g(습중량)에 10⁹ cfu g⁻¹의 분해세균을 접종하고 PLLA (5%, 건중량)를 첨가하여 생분해도를 측정하였다.

PLLA 분자량별 생분해 활성측정은 Table 2와 같이 PLLA 중량평균 분자량을 변화시켜 제조한 PLLA5000, PLLA11000, PLLA34000 및 PLLA256000을 대상으로 실시하였으며, 필름 형태인 PLLA256000의 분해실험 전 후의 시료의 표면 형태 변화를 SEM (JEOL JSM-5600LV)으로 관찰하였다.

PLLA 분해 세균의 분해활성 증진 효과를 조사하기 위하여 1% (w/w) gelatin, yeast extract 및 ammonium sulfate를 각각 첨가하고 PLLA256000을 기질로 하여 조절화된 퇴비화조건에서 분해활성 측정실험을 하였다.

균 접종량에 따른 분해활성 변화를 조사하기 위하여 분해 세균의 접종량을 각각 10⁹ cfu g⁻¹, 10¹⁰ cfu g⁻¹ 및 10¹¹ cfu g⁻¹로 달리하여 조절화된 퇴비화조건에서 PLLA-256000의 분해활성을 측정하였다.

결과 및 고찰

1. PLLA 분해 세균의 분리

PLLA 분해활성을 가지는 고온균을 경북 상주시의 경작토로부터 clear zone test를 통하여 분리하였다. 분해 세균은 Fig. 1과 같이 그람양성 간균이었으며, 투명대의 직경은 약 5.0 mm이었다

2. 분해 세균의 분자생물학적 분류 동정

16S rDNA의 가변부위에 대한 염기서열분석 결과 총 1,430개의 염기쌍 중 1,428개가 *Geobacillus caldoxylosilyticus* F38 (GenBank Accession No. AJ564613)과 일치하

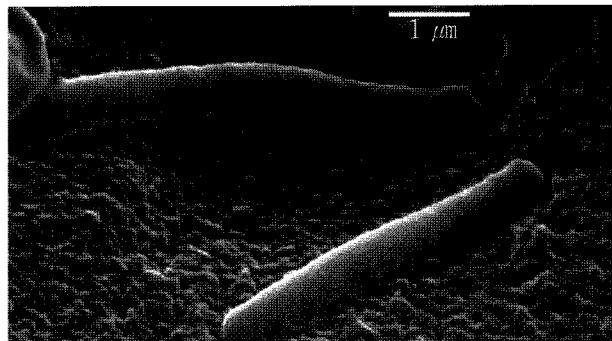


Fig. 1. SEM micrograph of the PLLA degrading strain.

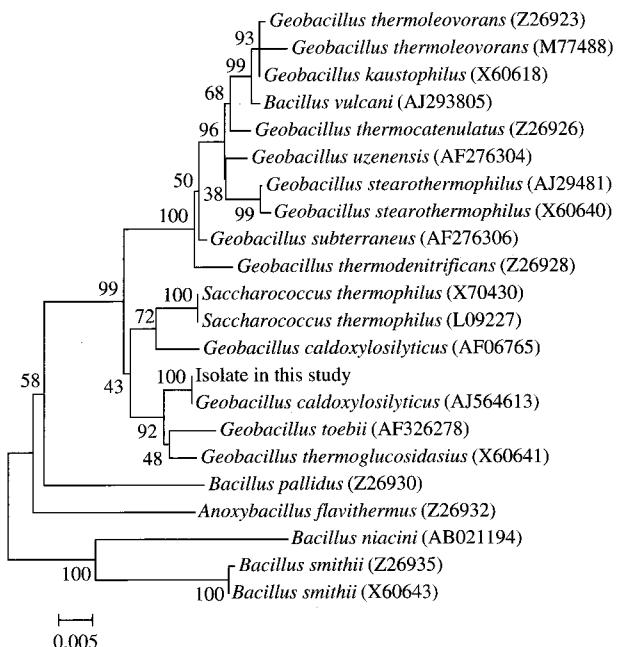


Fig. 2. Phylogenetic tree of the isolate based on the 16S rDNA sequence analysis.

였으며, Fig. 2에 본 실험에서 분리된 분해 세균의 균연종과의 계통수를 작성하였다. 본 연구에서 분리된 PLLA 분해 세균은 현재까지 보고되지 않은 새로운 PLLA 분해 세균이다. 그동안 보고된 PLLA 분해균은 방선균이 대부분이고, *Bacillus*속 세균과 유사 균종은 *Bacillus brevis*, *Geobacillus thermocatenulatus*, *Bacillus smithii* 및

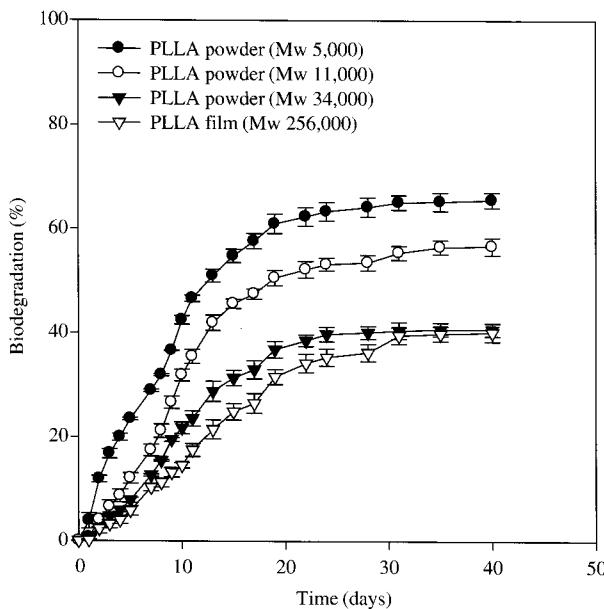


Fig. 3. Biodegradation of PLLA in the sterilized compost inoculated with the isolate.

*Paenibacillus amyloolyticus*이었다.

3. PLLA 분자량별 분해활성

Fig. 3은 조절화된 퇴비화조건에서 시간 경과에 따른 PLLA 생분해도를 나타낸다. 분리주는 58°C에서 40일 동안에 중량평균 분자량이 각각 5000, 11000, 34000 및 256000인 PLLA를 각각 66%, 57%, 41% 및 40% 분해하였다. 분리주는 PLLA 분자량이 5000인 저분자량 PLLA 뿐만 아니라 분자량이 256000으로 높은 고분자량 PLLA도 분해할 수 있는 매우 우수한 분해활성을 보였다. PLLA5000의 경우 분해 초기부터 유도기를 거치지 않고 CO₂가 발생되기 시작하였으나, PLLA11000, PLLA34000 및 PLLA256000의 생분해에는 약 7일간의 유도기를 거친 후 비로소 CO₂가 발생되기 시작하는 것을 볼 수 있었다.

고분자량의 PLLA의 생분해 기작은 두 가지의 분해과정을 거치는 것으로 알려져 있다. 첫 번째 단계는 고분자 PLLA가 가수분해되는 과정으로서 온도, 수분, 산이나 일칼리 등의 환경요인에 의해 고분자의 분자량 감소가 일어나 고분자 골격의 ester결합의 비효소적 chain 절단이 발생한다. 두 번째 단계는 고분자 chain 부분이 저분자량의 작은 조각(oligomer)으로 붕괴되는 과정이며, 이렇게 생성된 oligomer는 미생물의 영양원으로 사용되고 CO₂로 대사된다. 이는 고분자량 PLLA가 미생물 체내로 흡수될 수 없기 때문에 PLLA가 미생물 체내에서

CO₂로 대사되기 위해서는 우선적으로 PLLA의 가수분해 단계가 필요하기 때문이다(Kijchavengkul *et al.* 2006). 본 실험에서 중량평균 분자량 11000에서 256000 사이의 PLLA에서 나타나는 약 7일간의 유도기는 PLLA의 가수분해 과정으로 판단된다.

입자 형태인 PLLA5000, PLLA11000 및 PLLA34000의 경우는 예상한 바와 같이 분자량이 높을수록 분해도가 낮게 나타났다. 따라서 PLLA의 생분해도는 분자량에 크게 의존한다고 할 수 있다. 필름 형태로 제조한 PLLA256000의 경우 분해 초기에 가장 낮은 생분해도를 나타내었으나 abiotic한 가수분해가 진행되면서 생분해도가 급격히 증가하여 궁극적으로는 PLLA34000과 거의 유사한 생분해도를 나타내었다. Karjomaa *et al.* (1998)은 축중합 시간을 달리하여 제조한 PLLA oligomer (Mn=260, 323, 549, 1509 및 2880)를 대상으로 혼합 미생물군집을 갖는 퇴비를 접종원을 취하여 58°C에서 aquatic aerobic headspace biodegradation test로 분해활성을 측정한 결과, PLLA oligomer는 수평균 분자량이 260 g mol⁻¹에서 2,880 g mol⁻¹로 증가될수록 생분해도는 53%에서 41%로 감소함을 밝혔다. Teeraphatpornchai *et al.* (2003)은 중량평균 분자량이 각각 5000, 10000, 15000 및 20000인 PLLA를 포함한 평판배지에 PLLA 분해 균주인 *Paenibacillus amyloolyticus*를 접종하고 30°C에서 14일간 clear zone test를 하여 PLLA의 중량평균 분자량에 따른 생분해 활성을 조사하였다. 그 결과를 보면 분자량이 각각 5000 및 10000인 PLLA로 제조한 평판배지에서는 5 mm 이상의 투명대 두께를 형성하였으나, 분자량이 각각 15000 및 20000인 PLLA배지에서는 투명대 두께가 3~5 mm로 작아진 것은 분자량이 높아짐에 따라 분해활성이 감소되었다.

Fig. 4는 PLLA256000 필름을 58°C에서 40일간 생분해한 후에 관찰한 분해 전후의 PLLA 필름 표면의 형태 변화이다. 이는 PLLA의 생분해 과정은 먼저 가수분해에 의해 기계적인 물성이 약해지며, 고분자에서 저분자로 분자량 감소가 일어나 필름의 표면과 내부에 균열이 발생하고 이 균열 사이에 미생물이 침투하여 분해가 진행되는 것을 보여주고 있다.

4. 활성제 첨가에 따른 분해활성 증진 효과

Fig. 5는 조절화된 퇴비화장치에서 gelatin, yeast extract 및 ammonium sulfate를 각각 0.1% (w/w) 첨가한 후 PLLA256000을 기질로 하여 생분해실험을 실시한 결과이다. Gelatin, yeast extract 및 ammonium sulfate를 첨가하였을 때 각각 52%, 47% 및 45%의 생분해도를 나타내었으며 (Fig. 4-A), 활성제를 첨가하지 않은 대조군에서는

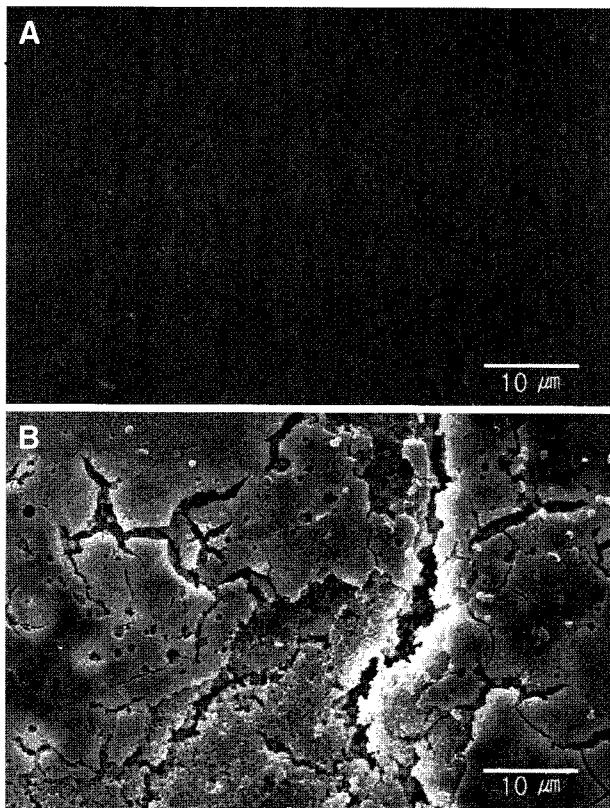


Fig. 4. SEM micrographs of the PLLA256000 film after 40 days of degradation in the sterilized compost inoculated with the PLLA degrading strain ($\times 2,000$). (A) Before biodegradation, (B) After biodegradation.

39%의 생분해도를 나타내어 gelatin > yeast extract > ammonium sulfate 순으로 분해활성 증진 효과가 나타났다. 이 결과로부터 ammonium sulfate와 같은 무기질소원보다 gelatin이나 yeast extract와 같은 유기질소원이 PLLA의 분해활성 증진에 더 효과가 있음을 알 수 있었다. 질소원의 첨가는 미생물의 생장에 필요한 효소활성을 높게 유지시키고 다양한 효소를 생성하여 분해활성을 증진시키는 것으로 사료된다.

Tokiwa and Jarerat (2005)은 *Saccharothrix waywayandensis*와 *Tritirachium album*에 의한 PLLA ($M_w=130000$) 분해 가속화에 관한 연구에서 *S. waywayandensis*와 *T. album*를 각각 접종하고 100 mg의 PLLA 질량 변화를 측정한 결과, 각각 2 mg과 15 mg의 감소를 확인하였으며, 0.1 % (w/v) gelatin을 첨가하여 분해실험을 하였을 때는 각각 95 mg과 76 mg의 PLLA 질량 감소를 관찰하였다.

5. 균 접종량에 따른 PLLA 분해활성의 변화

Fig. 6은 분해 세균의 접종량을 각각 10^9 cfu g^{-1} , $10^{10} \text{ cfu g}^{-1}$ 및 $10^{11} \text{ cfu g}^{-1}$ 로 달리하여 수행한 PLLA256000

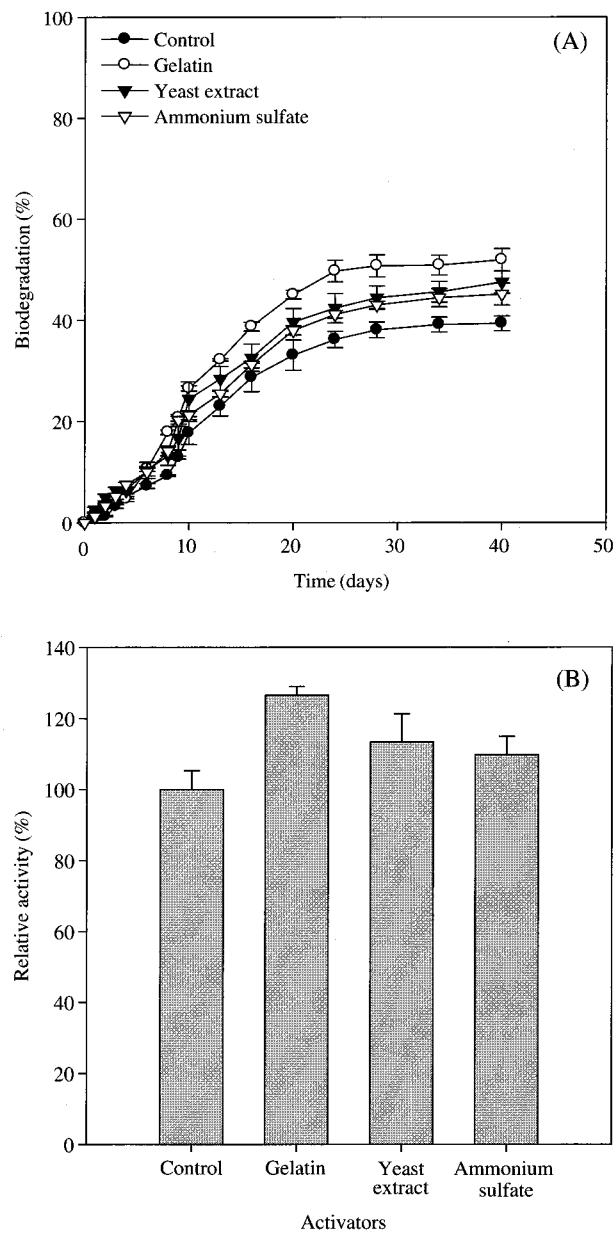


Fig. 5. Effect of activators (0.1% (w/w)) on the biodegradation of PLLA256000 in the controlled compost condition. (A) Biodegradation, (B) Relative activity.

의 생분해실험 결과로서 각각 40%, 45% 및 49%의 생분해도를 나타냄을 보여주고 있다. 분해 세균의 접종량이 10^9 cfu g^{-1} 인 경우를 대조군으로 할 경우 $10^{10} \text{ cfu g}^{-1}$ 와 $10^{11} \text{ cfu g}^{-1}$ 로 균 접종량을 증가시킴에 따라 대조군보다 각각 14%와 20% 분해활성이 증진되며, 생분해 초기의 유도기가 감소하는 경향을 보임을 알 수 있다.

Arutchelvan *et al.* (2006)은 액체무기염배지에 phenol 분해균으로 알려진 *Bacillus brevis*를 각각 2%, 3%, 4%, 5% 및 6% (v/v)씩 접종하여 phenol의 분해를 조사한 결

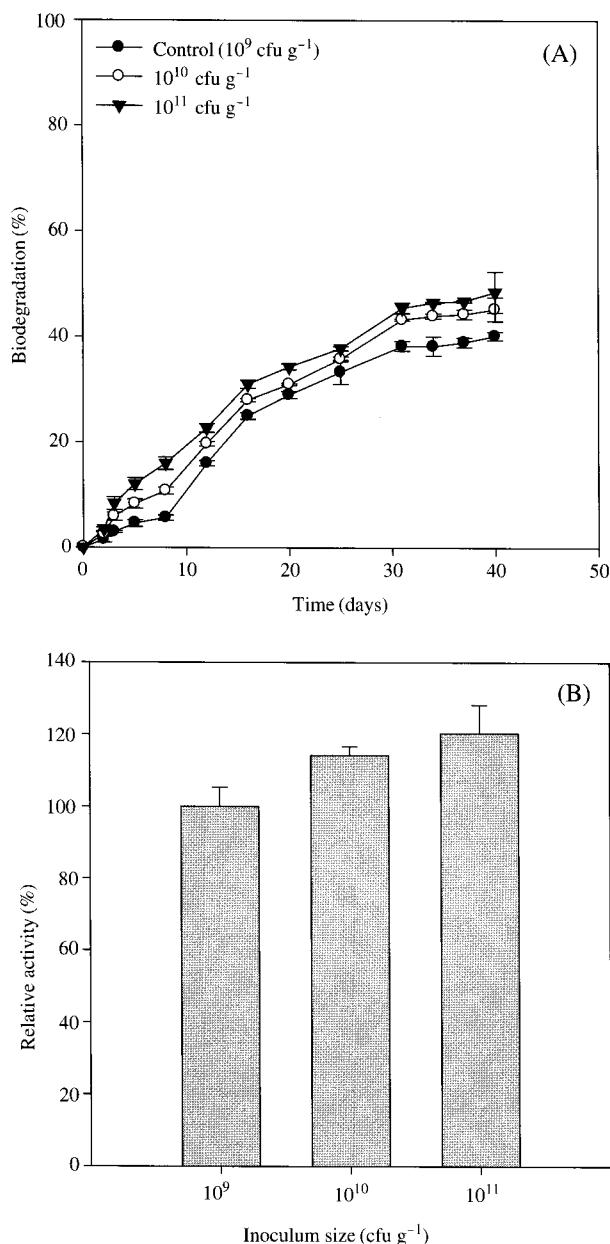


Fig. 6. Effect of inoculum size on the biodegradation of PLLA-256000 in the controlled compost condition. (A) Biodegradation, (B) Relative activity.

과는 접종량을 증가시킬수록 phenol 분해의 초기 유도기 가 감소하고 또 정지기에 더 빠르게 도달하였다고 보고하였다.

적  요

PLLA 분해활성을 가진 고온성세균을 우리나라 경작 토로부터 분리하였다. 분리된 균주는 그람양성 간균으로

16S rDNA 염기서열분석 결과 *Geobacillus caldoxylosilyticus*로 동정되었으며, 현재까지 보고되지 않은 새로운 PLLA 분해세균으로 밝혀졌다. 조절화된 퇴비화조건에서 멸균퇴비에 분리균주를 접종하고 58°C에서 40일간 분해활성을 측정하였다. 이 균주는 중량평균 분자량이 5000, 11000, 34000 및 256000인 PLLA5000, PLLA11000, PLLA34000 및 PLLA256000를 각각 66%, 57%, 41% 및 40% 생분해하였다. PLLA256000을 기질로 하여 gelatin, yeast extract 및 ammonium sulfate를 0.1% 씩 첨가하여 분해활성 변화를 조사한 결과 대조군에 비하여 분해활성이 각각 27%, 13% 및 10% 증진되었으며, 접종량을 10^9 cfu g^{-1} 로부터 $10^{10} \text{ cfu g}^{-1}$ 및 $10^{11} \text{ cfu g}^{-1}$ 로 증가시킴에 따라 PLLA256000의 생분해도는 각각 14% 및 20% 증가하였다.

사  사

본 연구는 2007년 상명대학교 자연과학연구소 연구비에 의하여 수행되었습니다.

참  고  문  현

- Arutchelvan V, V Kanakasabai, R Elangovan, S Nagarajan and V Muralikrishnan. 2006. Kinetics of high strength phenol degradation using *Bacillus brevis*. J. Hazard. Mater. 129: 216-222.
- Itävaara M, S Karjomaa and JF Selin. 2002. Biodegradation of polylactide in aerobic and anaerobic thermophilic conditions. Chemosphere 46:879-885.
- Jarerat A, H Pranamuda and Y Tokiwa. 2002. Poly (L-lactide)-degrading activity in various Actinomycetes. Macromol. Biosci. 2:420-428.
- Karjomaa S, T Suortti, R Lempainen, JF Selin and M Itävaara. 1998. Microbial degradation of poly-(L-lactic acid) oligomers. Polym. Degrad. Stabil. 59:333-336.
- Kijchavengkul T, R Auras, M Rubino, M Ngouajio and RT Fernandez. 2006. Development of an automatic laboratory-scale respirometric system to measure polymer biodegradability. Polym. testing 25:1006-1016.
- KS M3100-1:2002; MOD ISO 14855:1999. Determination of the ultimate aerobic biodegradability and disintegration of plastic materials under controlled composting conditions - Part 1: Analysis of evolved carbon dioxide by titration method. Seoul, South Korea.
- Kumar S, K Tamura and M Nei. 2004. MEGA3: Integrated

- software for molecular evolutionary genetic analysis and sequence alignment. *Briefings in Bioinformatics.* 5:150-163.
- Nakamura K, T Tomita, N Abe and Y Kamio. 2001. Purification and characterization of an extracellular poly(L-lactic acid) depolymerase from a soil isolate, *Amycolatopsis* sp. Strain K104-1. *Appl. Environ. Microbiol.* 67:345-353.
- Pranamuda H, Y Tokiwa and H Tanaka. 1997. Polylactide degradation by an *Amycolatopsis* sp. *Appl. Environ. Microbiol.* 63:1637-1640.
- Pranamuda H and Y Tokiwa. 1999. Degradation of poly(L-lactide) by strains belong to genus *Amycolatopsis*. *Biotech. Lett.* 21:901-905.
- Sakai K, H Kawano, A Iwami, M Nakamura and M Moriguchi. 2001. Isolation of a thermophilic poly-L-lactide degrading bacterium from compost and its enzymatic characterization. *J. Biosci. Bioeng.* 92:298-300.
- Teeraphatpornchai T, T Nakajima-Kambe, Y Shigeno-Akutsu, M Nakayama, N Nomura, T Nakahara and H Uchiyama. 2003. Isolation and characterization of a bacterium that degrades various polyester-based biodegradable plastics. *Biotech. Lett.* 25:23-28.
- Tokiwa Y and A Jarerat. 2003. Microbial degradation of aliphatic polyesters. *Macromol. Symp.* 201:283-289.
- Tokiwa Y and A Jarerat. 2005. Accelerated microbial degradation of poly(L-lactide). *Macromol. Symp.* 224:367-376.
- Tomita K, Y Kuroki and K Nagai. 1999. Isolation of thermophiles degrading poly(L-lactic acid). *J. Biosci. Bioeng.* 87: 752-755.
- Tomita K, T Nakajima, Y Kikuchi and N Miwa. 2004. Degradation of poly(L-lactic acid) by a newly isolated thermophile. *Polym. Degrad. Stabil.* 84:433-438.
- Torres A, SM 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.
- Uchida H, T Nakajima-Kambe, Y Shigeno-Akutsu, N Nomura, Y Tokiwa and T Nakahara. 2000. Properties of a bacterium which degrades solid poly(tetramethylene succinate)-co-adipate, a biodegradable plastic. *FEMS Microbiol. Lett.* 189:25-29.

Manuscript Received: June 4, 2007

Revision Accepted: August 5, 2007

Responsible Editor: Sun Il Kwon