

## 해수 미생물의 환경친화성 플라스틱의 생분해 특성

김 말 남\* · 윤 문 경

상명대학교 생물학과

### Biodegradation Characteristics of the Eco-friendly Plastics by Seawater Microbes

Mal Nam Kim\* and Moon Gyung Yoon

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

**Abstract** – Degradation behavior in the seawater of Tongyeong, Incheon, Kunsan and Hongsung was explored for Mater-Bi®, poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxy valerate) (PHBV), poly(butylene succinate-co-butylene adipate) (PBSA) and polycaprolactone (PCL) which can eventually be used for various fishery tools. *Acinetobacter lwoffii/junii* and *Shewanella algae/putrefaciens* inhabited all the seawater samples. *Eikenella corrodens* was also detected in all the seawater samples, although identified with poor confidence by VITEK system. Mater-Bi® was degraded faster than PHBV, PBSA and PCL in the seawater in contradiction to the degradation behavior in soil environment. The seawater retrieved from Incheon exhibited the most elevated activity for the plastic degradation, which may be partly ascribed to the largest number of total viable counts.

**Key words** : plastics, seawater, biodegradation, total viable counts

## 서 론

플라스틱은 가볍고 가공이 용이할 뿐만 아니라 가격이 저렴하고 내구성이 뛰어나 많은 응용 분야에서 금속이나 목재 및 유리를 대체하는 용도로 사용되고 있다 (Nikolic *et al.* 2003; Tserki *et al.* 2006). 그러나 플라스틱의 사용량이 증가되면서 폐기 후 분해되기 어려운 특성으로 인하여 플라스틱에 의한 환경오염이 심각한 문제로 대두되고 있다. 폐기된 플라스틱의 회수에 필요한 비용이 과다하며 재가공 과정에서 플라스틱의 물성이 크게 저하되기 때문에 플라스틱의 재활용은 비경제적일 경우가 많다 (Zhao *et al.* 2005).

자연환경에서 스스로 분해되는 특성을 가진 환경친화성 플라스틱은 폐플라스틱에 의한 문제를 부분적으로 해결하는데 기여할 수 있기 때문에 각종 일회용 용품이나 포장재 및 회수가 어려운 용도로 사용되는 분야에 유용하게 응용될 수 있다.

환경친화성 플라스틱으로 합성 범용플라스틱을 대체하기 위해서는 환경친화성 플라스틱의 생산 원가가 크게 높지 않고 물리적 특성이 우수하여야 한다 (Zhao *et al.* 2005; Tserki *et al.* 2006).

환경친화성 플라스틱 중 Mater-Bi®는 Italy의 Novamont사에서 전분과 poly(vinyl alcohol) 등을 복합화하여 제조한 것이다. PHBV는 미생물 발효에 의하여 생합성되는 폴리에스테르계 플라스틱이며 (Shinomiya *et al.* 1997), 생체 적합성이 우수하여 수술용 봉합사와 같은 의료용 재료로 이용되고 있다. PBSA는 1990년대에 Showa Denco

\* Corresponding author: Mal Nam Kim, Tel. 02-2287-5150.  
Fax. 02-287-0070, E-mail. mnkim@smu.ac.kr

사의 연구진에 의하여 처음 개발되었으며 (Nikolic *et al.* 2003), 1,4-butanediol과 succinic acid 및 adipic acid의 축중합에 의하여 합성된다. Main chain에 butylene succinate와 butylene adipate가 random하게 연결되어 있는 구조를 가지고 있으며 1,4-butanediol과 succinic acid의 축중합에 의하여 합성된 PBS보다 용점이 낮고 생분해성이 높다 (Tserki *et al.* 2006). PCL은 polyethylene (PE)과 유사한 물리적 성질을 가진 생분해성 플라스틱으로 반결정체의 열가소성 플라스틱이다. 그러나 PCL은 신축성이 비교적 약하고 용융점이 60~65°C로 낮기 때문에 용도가 극히 제한되어 있으며 PE와 혼합하여 생분해성 플라스틱의 제조에 이용되고 있다 (Raghavan 1995).

어망이나 부표 및 낚시줄과 같은 어업 용구의 재료로 사용되는 플라스틱들은 바다 속으로 유실되는 경우가 많다. 또한 각종 일회용 생활용품이나 포장재로 사용되는 플라스틱 재료도 많은 부분은 폭우나 하천의 범람 등으로 바다 속으로 흘러들어 침차 축적될 수 있다.

통계에 의하면 매년 수십만 톤의 플라스틱이 해양 환경에 폐기되고 있다. 바다 속에 폐기된 플라스틱 잔해는 해안이나 바다환경을 오염시켜 야생 동물과 해양 동물의 생존을 위협하고 있으며 환경 미관을 크게 해치고 있다. 매년 수백만 마리의 해양 동물이 플라스틱 잔해물에 의하여 질식사되거나 감겨서 죽어가고 있다 (Doi *et al.* 1992). 특히 바다 속은 태양 빛의 강도와 용존산소의 농도가 낮기 때문에 플라스틱 잔해가 토양에서보다 훨씬 느린 속도로 분해된다. 이에 따라 MARPOL 조약이 발효되게 되었으며, 이 조약에 의하면 난분해성 플라스틱의 해양 폐기는 현재 엄격하게 금지되어 있다.

해수 속에서 난분해성 플라스틱의 분해거동을 조사한 논문은 다수 있으나 (Akmal *et al.* 2003; Pini *et al.* 2007; Sudhakar *et al.* 2007a, b, 2008) 환경친화성 플라스틱의 분해거동은 주로 토양이나 활성오니 속에서 조사되었을 뿐 특이하게도 해수 속에서 환경친화성 플라스틱의 분해거동을 조사한 논문은 거의 없는 상태이다.

본 연구에서는 MARPOL 조약에 따라 환경친화성 플라스틱이 난분해성 범용 플라스틱을 대체하여 사용될 때 해양환경 내에서 축적될 수 있는 가능성에 대비하여 우리나라 해수에서 Mater-Bi®, PHBV, PBSA 및 PCL의 분해거동을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 환경친화성 플라스틱 재료

PHBV는 중량평균분자량이 450,000 g mol<sup>-1</sup>, PBSA는

130,000 g mol<sup>-1</sup>, PCL은 325,000 g mol<sup>-1</sup>인 것을 사용하였다. 복합재료 Mater-Bi®는 Novamont사로 부터 pellet 상의 제품을 공급받아 사용하였다.

### 2. 해수 미생물의 개체수 측정 및 분리·동정

채수한 해수시료 1 L를 membrane filter (0.45 μm)에서 여과하여 해수 미생물을 포함한 해수 농축액을 seawater nutrient agar배지에 각각 0.1 mL씩 분주·도말하고 20°C에서 5±2일간 배양한 후 평판계수법 (Allena *et al.* 2005)에 따라 total viable count (TVC)를 계수하였다. TVC를 측정할 seawater nutrient agar배지에서 콜로니를 선별하여 순수분리하고 VITEK Microbe Identification System (BioMerieux)을 이용하여 우점종 세균을 동정하였다.

### 3. 환경친화성 플라스틱에 대한 분해활성의 측정

반응배지 100 mL에 환경친화성 플라스틱 필름 시료를 0.01% 투입하고 해수 미생물을 포함한 해수 농축액 1 mL를 접종하여 변형 Sturm test (ASTM D5209-91)장치에서 20°C, 45일간 플라스틱의 분해활성을 측정하였다.

## 결과 및 고찰

Mater-Bi®, PHBV, PBSA 및 PCL은 자연환경 속에서 스스로 분해되는 대표적인 환경친화성 플라스틱으로 MARPOL 조약이 발효됨에 따라 기존 난분해성 플라스틱을 대체하여 어업용구와 각종 일회용 용품의 재료로 사용될 전망이다.

본 연구에서는 이들 환경친화성 플라스틱이 해양 환경에서 다량 사용되는 것을 대비하여 우리나라 해양환경에서 이들 환경친화성 플라스틱의 분해거동을 조사하였다. 플라스틱 표면에 형성되는 biofilm에 의한 biofouling loading 정도와 플라스틱의 분해활성은 해수의 온도와 염분의 농도, 용존산소의 농도, pH 및 산화환원 전위차(ORP) 등에 의존하며 특히 해수 온도에 대한 의존성이 가장 높으므로 (Sudhakar *et al.* 2007b) 수온이 높아 미생물의 활성이 가장 높은 우리나라 하절기 해수를 채취하여 Mater-Bi®, PHBV, PBSA 및 PCL의 분해거동을 조사하였다.

### 1. 해수 채취장소와 해수의 이화학적 특성

Table 1은 해수의 채취장소를 수록한 것이며, Table 2는 해수의 이화학적 특성이다.

**Table 1.** Seawater sampling sites in Korea

Location	Sampling site
Tongyeong	Tongyeong port, Tongyeong-si
Incheon	Wolmi port, Incheon-si
Gunsan	Biyongdo port, Gunsan-si
Hongsung	Namdang port, Hongsung-gun

**Table 2.** Physico-chemical properties of the seawater samples

Location	Temperature (°C)	pH	Salinity (‰)
Tongyeong	22.9	7.9	31.9
Incheon	24.2	7.7	23.1
Gunsan	22.2	8.2	26.8
Hongsung	23.7	8.2	27.2

## 2. 해수 미생물의 개체수 측정 및 우점종 세균의 동정

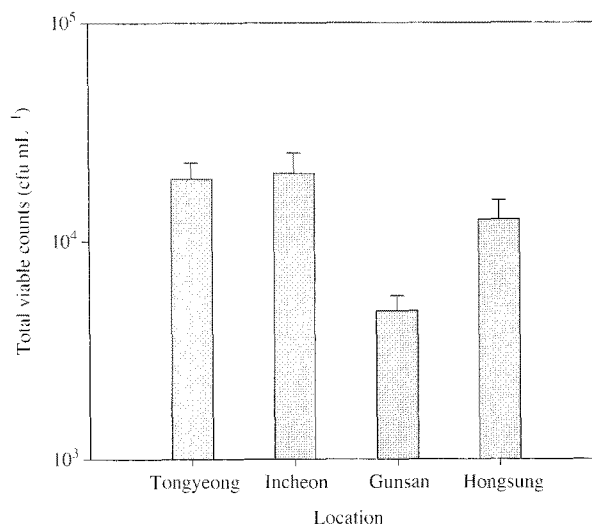
Fig. 1은 네 지역에서 채수한 해수로부터 검출된 세균의 TVC를 측정한 결과이다. 군산의 해수에서 가장 적은 수의 세균이 검출되었으며 통영과 인천의 해수 속에는 상호 유사한 수의 세균이 존재하였다.

Table 3은 VITEK을 이용한 각 해수에 서식하는 우점종 세균의 동정 결과이다.

*Acinetobacter lwoffii/junii*와 *Shewanella algae/putrefaciens*는 모든 해수에 서식하고 있었으며 *Eikenella corrodens* 역시 비록 VITEK 결과의 신뢰도가 조금 낮은 수준으로 동정되었지만 모든 해수에서 검출되었다.

Kim et al. (2007)은 통영 바다목장 해수에서 중속영양 세균은 해수 온도가 높은 여름철에 가장 많이 검출되었으며, 그 개체수는 채수 연도에 따라  $1.2 \times 10^2 \sim 2.68 \times 10^4$  cfu mL<sup>-1</sup>이었다고 보고하였다. 한편 중속영양세균 군집의 종조성은 *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas stutzeri*, *Acinetobacter lwoffii*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Burkholderia mallei*, *Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Comamonas acidovorans*, *Actinobacillus ureae* 및 *Chryseobacterium indologenes*로 조사되었고 *Pseudomonas fluorescens*와 *Acinetobacter lwoffii*를 우점종으로 보고하였다.

Sudhakar et al. (2007a)는 벵갈 만의 항구와 어업기지에서 채수한 해수에는 *Pseudomonas* spp., 철 환원세균, 혐기성세균이 주종을 이루었으며, Akmal et al. (2003)은 인도양의 해수에서 *Proteus* spp.가 poly (3-hydroxybutyrate) (PHB)와 같은 생분해성 플라스틱 분해 미생물로 분리·동정되었다고 보고하였다. 한편 Pini et al. (2007)은 디젤유 분해 미생물로서 *Rhodococcus* spp.와 *Alcaligenes* spp.를 남극해의 해수에서 분리하였다. Sudhakar et



**Fig. 1.** Total viable counts in the seawater samples retrieved from 4 different locations in Korean peninsula.

**Table 3.** Dominant bacteria isolated from the seawater samples retrieved from different locations in Korean peninsula

Location	Identification results (confidence %)
Tongyeong	<i>Acinetobacter lwoffii/junii</i> (99) <i>Aeromonas hydrophila/caviae</i> (99) <i>Shewanella algae/putrefaciens</i> (90) <i>Eikenella corrodens</i> (81)
Incheon	<i>Acinetobacter lwoffii/junii</i> (99) <i>Shewanella algae/putrefaciens</i> (99) <i>Eikenella corrodens</i> (99) <i>Vibrio alginolyticus</i> (88) <i>Chryseobacterium indologenes</i> / <i>Brevibacterium vesicularis</i> (64)
Gunsan	<i>Acinetobacter lwoffii/junii</i> (99) <i>Shewanella algae/putrefaciens</i> (99) <i>Eikenella corrodens</i> (88)
Hongsung	<i>Acinetobacter lwoffii/junii</i> (99) <i>Aeromonas hydrophila/caviae</i> (99) <i>Shewanella algae/putrefaciens</i> (99) <i>Eikenella corrodens</i> (88)

al. (2008)은 난분해성 플라스틱인 PE 분해 미생물로서 *Bacillus sphericus*와 *Bacillus cereus*를 인도양의 얇은 해수로부터 분리하였으며, Sudhakar et al. (2007b)는 동일한 해수에서 *B. cereus*, *B. sphericus*, *Vibrio furnisii* 및 *Brevundimonas vesicularis*가 nylon-6와 nylon-66에 대한 분해활성을 보였다고 보고하였다.

## 3. 해수 미생물의 Mater-Bi®, PHBV, PBSA 및 PCL 분해

Fig. 2는 네 종류의 해수 미생물을 이용하여 Mater-

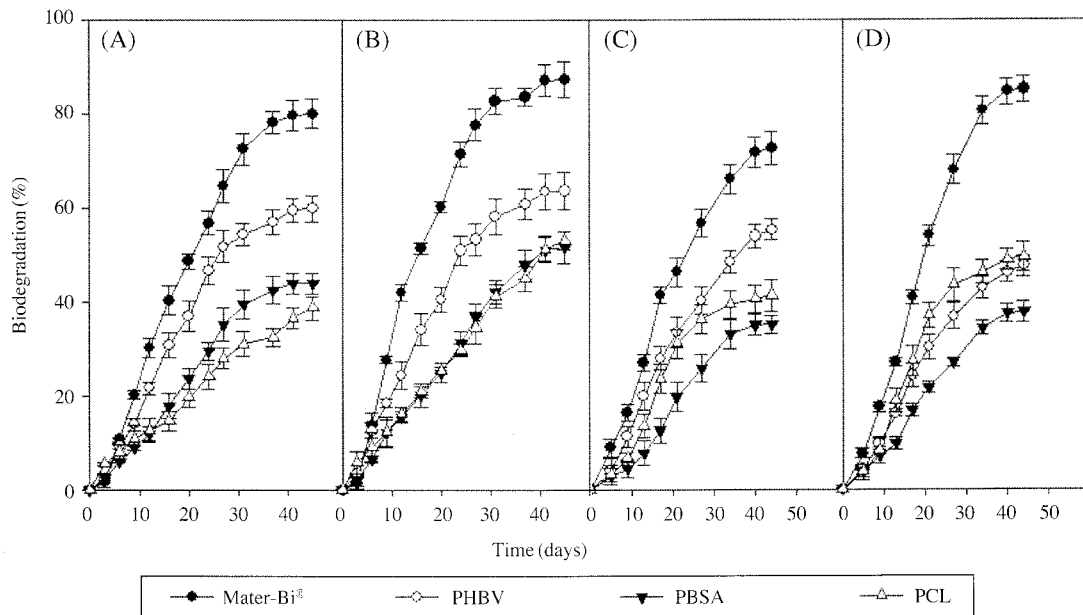


Fig. 2. Biodegradation of Mater-Bi®, PHBV, PBSA and PCL in the seawater samples retrieved from 4 different locations (A) Tongyeong (B) Incheon (C) Gunsan (D) Hongsung.

Bi®, PHBV, PBSA 및 PCL의 분해 속도를 변형 Sturm test로 조사한 결과이다. Biodegradation (%)는 플라스틱의 모든 탄소가 모두 CO<sub>2</sub>로 대사되었다고 가정하였을 때 발생할 것으로 예상되는 이론적 CO<sub>2</sub>의 발생량을 기준으로 플라스틱이 미생물에 의하여 대사되어 나오는 CO<sub>2</sub>를 Ba(OH)<sub>2</sub> 수용액으로 포집하여 측정된 축적량으로부터 다음의 식을 이용하여 계산된 것이다.

$$\text{Biodegradation (\%)} = \frac{\text{Cumulated amount of CO}_2 \text{ evolved}}{\text{Theoretical amount of CO}_2} \times 100$$

Fig. 2의 결과는 모든 해수에서 Mater-Bi®가 가장 빠른 속도로 분해되는 것을 보여준다. PHBV 역시 빠르게 분해되었으나 홍성 해수에서는 PCL보다 약간 더 느린 속도로 분해되는 것으로 나타났다. 통영과 인천 그리고 군산 및 홍성의 해수 중 인천의 해수가 Mater-Bi®, PHBV, PBSA 및 PCL 모두에 대하여 가장 높은 분해활성을 보인 것은 인천의 해수가 가장 많은 수의 TVC를 포함하고 있는데 일부 기인한다고 볼 수 있다. 그러나 통영과 군산 및 홍성 해수의 경우에는 TVC에 따른 이들 플라스틱의 분해 속도는 특정한 추세를 보이지 않았다.

Lee and Kim (2000)은 PHB와 PBSA 및 Mater-Bi®의 분해 미생물을 활성오니토와 경작토로부터 분리하고 *Flavimonas oryzae*, *Corynebacterium pseudodiphth-*

*eriticum* 및 *Micrococcus diversus*를 PHB 분해균으로 동정하였다. 또한 *Pseudomonas vesicularis*, *Pasteurella multocida* 및 *Flavobacterium odoratum*을 PBSA 분해균으로, *Pseudomonas vesicularis*를 Mater-Bi® 분해균으로 분리·동정하였다. 그러나 무기염액체배지 속에 활성오니 미생물 및 *F. oryzae*를 접종한 후 30°C에서 28일간 플라스틱의 중량 감소를 측정하였을 때 PHB가 가장 빠르게 분해되어 44~69%의 중량 감소가 일어난 반면 Mater-Bi®는 29% 수준의 중량 감소를 보여 해수에서의 분해와는 다른 순서의 분해 속도를 나타내었다.

한편 *Streptomyces* spp. 및 *Aspergillus fumigatus*가 PBSA 분해 진균으로 우리나라 20개 지역의 경작토와 쓰레기매립지 매립토, 부엽토 및 활성오니토로부터 분리·동정되었으며 (Kim et al. 2007), *Paecilomyces fumosoroseus*, *Penicillium digitatum*, *Fusarium solani* 및 *Aspergillus* spp.는 PCL 분해 진균으로, *Ochrobactrum anthropi*는 PCL 분해 세균으로 각각 분리·동정되었다 (Kim, 2004). *O. anthropi*는 27°C 및 37°C에서 21일간 PCL을 각각 10% 및 52% 수준으로 분해하는 높은 활성을 나타내었다 (Kim, 2004).

Kim (1998)은 PHB 및 PHBV 분해균으로 *Corynebacterium jeikeium*을 난지 하수처리장의 활성오니토로부터 분리·동정하였으며 27°C에서 30일간 Sturm test를 실시한 결과 PHB와 PHBV가 각각 36.4% 및 37.2% 분해되었다.

## 사 사

본 연구는 2008년 (재)계당장학재단의 연구비를 지원 받아 수행되었습니다.

## 적 요

통영, 인천, 군산 및 홍성의 해수 미생물에서 각종 어업용구의 재료로 사용될 수 있는 Mater-Bi®, PHBV, PBSA 및 PCL의 분해거동을 조사하였다. *Acinetobacter lwoffii/junii*와 *Shewanella algaelputrefaciens*는 모든 해수 속에 서식하고 있었으며 *Eikenella corrodens* 역시 비록 VITEK 결과의 신뢰도가 조금 낮은 수준으로 동정되었지만 모든 해수에서 검출되었다. 해수에서는 Mater-Bi®가 PHBV, PBSA 및 PCL보다 더 빠르게 분해되어 토양 환경에서의 분해와는 다른 거동을 나타내었다. 인천의 해수가 이들 플라스틱에 대하여 가장 높은 분해활성을 보였으며 이는 인천의 해수가 가장 많은 수의 total viable count를 포함하고 있는데 일부 기인하는 것으로 사료된다.

## 참 고 문 헌

- Akmal D, MN Azizan and M/IA Majid. 2003. Biodegradation of microbial polyesters under the tropical climate environment. *Polym. Degrad. Stabil.* 80:513-518.
- ASTM D5209-91. 1991. Standard test method for determining the aerobic biodegradation of plastic materials in the presence of municipal sewage sludge, Annual Book of ASTM Standard, Vol. 08.03, American Society for Testing Materials, Philadelphia, USA.
- Doi Y, Y Kanesawara, N Tanahashi and Y Kumagai. 1992. Biodegradation of microbial polyesters in the marine environment. *Polym. Degrad. Stabil.* 36:173-7.
- Kim MN. 1998. Selective isolation of poly(3-hydroxybutyrate) degrading bacteria. *Kor. J. Environ. Biol.* 16:341-347.
- Kim MN. 2004. Soil microorganism degrading polycaprolactone. *Kor. J. Environ. Biol.* 22:400-404.
- Kim MN. 2007. Annual distribution of heterotrophic bacterial community in the marine ranching ground of Tongyeong coastal waters. *Kor. J. Environ. Biol.* 25:273-278.
- Kim MN, SH Lee, WG Kim and HY Weon. 2007. Screening of Microorganisms with High Poly(butylene succinate-co-butylene adipate)-Degrading Activity. *Kor. J. Environ. Biol.* 25:267-272.
- Lee AR and MN Kim. 2000. Biodegradation characteristics of poly(3-hydroxybutyrate), Sky-Green® and Mater-Bi® by soil bacteria. *Kor. J. Microbiol.* 36:299-305.
- Nikolic MS, D Poleti and J Djonlagic. 2003. Synthesis and characterization of biodegradable poly(butylene succinate-co-butylene fumarate). *Polym. Degrad. Stabil.* 74:263-270.
- Pini F, C Grossi, S Nereo, L Michaud, AL Giudice, V Bruni, F Baldi and R Fani. 2007. Molecular and physiological characterization of psychrotrophic hydrocarbon degrading bacteria isolated from Terra Nova Bay. *Eur. J. Soil Biol.* 43:368-379.
- Raghavan D. 1995. Characterization of biodegradable plastics. *Polym. Technol. Eng.* 34:41-63.
- Shinomiya M, T Iwata, K Kasuya and Y Doi. 1997. Cloning of the gene for poly(3-hydroxy butyric acid). *FEMS Microbiol. Lett.* 154:89-94.
- Sudhakar M, C Priyaarshini, M Doble, P Sriyutha Murthy and R Venkatesan. 2007a. Marine bacteria mediated degradation of nylon 66 and 6. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 60:144-151.
- Sudhakar M, A Trishul, M Doble, K Suresh Kumar, S Syed Jahan, D Inbakandan, RR Viduthalai, VR Umadevi, P Sriyutha Murthy and R Venkatesan. 2007b. Biofouling and biodegradation of polyolefins in ocean waters. *Polym. Degrad. Stabil.* 92:1743-1752.
- Sudhakar M, M Doble, P Sriyutha Murthy and R Venkatesan. 2008. Marine microbe-mediated biodegradation of low- and high-density polyethylenes. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 61:203-213.
- Tserki V, P Matzinos, E Pavalidou, D Vachliotic and C Panayiotou. 2006. Biodegradable aliphatic polyester. Part I. Properties and biodegradation of poly(butylene succinate-co-butylene adipate). *Polym. Degrad. Stabil.* 91:367-376.
- Zhao JH, XQ Wang, J Zeng, G Yang, FH Shin and Q Yan. 2005. Biodegradation of poly(butylene succinate-co-butylene adipate) by *Aspergillus versicolor*. *Polym. Degrad. Stabil.* 90:173-179.

Manuscript Received: July 28, 2008  
Revision Accepted: August 19, 2008  
Responsible Editor: Seung Bum Kim