

토양에서 분리한 Poly(butylene succinate-co-butylene adipate) 분해균의 분해활성 증진

주 현 진 · 김 말 남*

상명대학교 생물학과

Improvement of Degrading Activity of Poly(butylene succinate-co-butylene adipate)-Degrading Strains Isolated from Soils

Hyun Jin Joo and Mal Nam Kim*

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

Abstract — From leaf mold and reclamation site soil of the Capital area of Korea, 3 poly(butylene succinate-co-butylene adipate: PBSA)-degrading strains were isolated through the clear zone test. The PBSA-degrading activities of the strains were assessed by means of a modified Sturm test using 0.01% of PBSA film as a sole carbon source. After the modified Sturm tests for 40 days at the respective isolation temperatures, the 3 strains degraded 30%, 55% and 43% of PBSA, respectively. The isolated strains were identified to be *Burkholderia cepacia* PBSA-4, *Bacillus licheniformis* PBSA-5 and *Burkholderia* sp. PBSA-6 through the 16S rDNA gene sequence analysis. Among them, PBSA-5 degraded both PBSA and Poly(vinyl alcohol). The degradation activity of the PBSA degrading strains appeared to be high at moderate temperatures such as 27°C and 37°C, and initial inoculum size of 10^{10} cfu mL⁻¹ degraded PBSA 1.2~1.3 more times than that 10^9 cfu mL⁻¹. Addition of 0.1 or 0.5% (w/w) of gelatin, yeast extract and ammonium sulfate raised the PBSA degrading activity, and especially addition of 0.1% (w/w) of gelatin enhanced the PBSA degrading activity by more than 33%. The mixed strains degraded PBSA faster than the single strain.

Key words : PBSA, soil, 16S rRNA sequencing, *Burkholderia cepacia* PBSA-4, *Bacillus licheniformis* PBSA-5, *Burkholderia* sp. PBSA-6, activator

서 론

전 세계적으로 플라스틱의 생산량은 매년 1억만 톤이 넘는다. 그들은 짧은 기간 내에 폐기되거나, 그렇지 못한 것은 몇 십 년 동안 쓰레기처리장이나 경작지에 그대로 남아있게 된다. 사용 후에 폐기된 플라스틱은 자연계에서 쉽게 분해되지 않으므로 환경오염의 원인이 되고 있

다. 폐 플라스틱을 용이하게 회수할 수 있으면, 이를 재사용하거나 연료로서 에너지 회수, 또는 화학적 분해를 통해서 원료로 재활용할 수 있을 것이다. 그러나 음식물 포장재, 위생용품, 일회용품 등에 사용된 플라스틱은 회수하기 어렵고 비경제적이다. 이를 해결하기 위한 방법 중 하나는, 현재 널리 사용되고 있는 반환경적 합성 플라스틱을 미생물에 의하여 분해가 가능한 생분해성 플라스틱으로 대체하는 것이다. 생분해성 플라스틱 중에서도 특히 지방족 폴리에스테르가 가장 각광받고 있는 이유 중 하나는 이들이 생물학적 공격에 매우 약하기 때

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

문이다. 하지만 이들의 광범위한 사용이 제한적인 이유는 기계적 물성이 약하고 녹는점이 낮으며 생산 단가가 비싸기 때문이다 (Malija *et al.* 2001).

Poly(butylene succinate-co-butylene adipate: PBSA)는 1,4-butanediol, succinic acid 및 adipic acid를 원료물질로 사용하여 생산된 지방족 폴리에스테르로서 토양매립지 자연에서 분해되는 친환경 소재이다. 우리나라 식품의약품안전청의 고시 제2008-16호(2008) '기구 및 용기 포장의 기준 규격'에 의하면 PBSA란 호박산, 아디핀산 및 1,4-부탄디올의 공중합물질을 60% 이상 함유하는 중합체를 말하며, 현재 일회용 식품용기 및 포장재로 사용이 가능한 합성수지를 말한다. PBSA는 상대적으로 낮은 생산가를 가진 diacids 및 diols로부터 합성되며, polyolefins과 유사한 기계적 특성을 보이기 때문에 훌륭한 가공성을 지니고 polyolefins에 사용되고 있는 상업적인 장비를 이용하여 다양한 상품으로의 변형이 가능하다는 장점이 있다. 또한 poly(butylene succinate: PBS)보다 낮은 결정화도로 인해 생분해가 진행되는 데 있어 좀 더 유리한 위치를 가지며, 식품용기, 발포 시트, 직물로서 사용 가능할 뿐만 아니라 제초 필름, 포장 필름, 칼붙이, 칫솔, 그물, 낚시줄, 로프, 테이프, 쿠션 및 약품용 기로의 이용 가능성을 가지고 있다 (Zhao *et al.* 2005).

지금까지 퇴비나 토양에서 분리된 PBSA를 분해하는 세균과 곰팡이에 대한 연구가 진행되어왔으나, poly(ϵ -caprolactone: PCL) 및 poly(3-hydroxybutyrate: P(3HB))와 같이 쉽게 생분해가 가능한 플라스틱에 대한 연구와 비교하여 상대적으로 낮은 상황이다 (Ishii *et al.* 2008). 현재까지 알려진 PBSA 분해균은 일본의 토양에서 분리한 *Bacillus stearothermophilus* (Tomita *et al.* 2000), *Paenibacillus amylolyticus* (Teeraphatpornchai *et al.* 2003), *Acidovorax delafieldii* (Uchida *et al.* 2000) 및 퇴비에서 분리한 세균 *Bacillus pumilus* (Hayase *et al.* 2004) 및 진균 *Aspergillus versicolor* (Zhao *et al.* 2005) 등이 알려져 있다. *A. delafieldii*는 8일 안에 PBSA 분말 150 mg 중 75%를 분해하였으며, *B. stearothermophilus*는 20일 동안 PBSA 필름의 무게를 약 80% 가까이 감소시켰다고 보고하였다. 그러나 PBSA 분해균에 대한 연구는 대부분 일본의 토양 및 퇴비로 국한되어 있으며, 그나마도 *Bacillus* 속으로 한정되어 있고, 특히 우리나라 토양에서의 PBSA 분해균에 대한 연구는 거의 보고되어 있지 않은 실정이다.

또한 선발된 균주에 의한 생분해성 플라스틱의 분해 활성이 높지 않기 때문에 상업적인 이용을 위해서는 더 많은 분해균의 분리 및 선발된 균주의 분해활성을 증진시키기 위한 노력이 필요하며, 환경친화적인 플라스틱의 발전 및 이러한 플라스틱의 생분해에 있어 미생물이 공

헌하는 바에 대한 지식을 얻기 위해 플라스틱의 분해 정도를 평가하는 것은 매우 중요하다 (김과 이 2007).

본 연구에서는 우리나라 토양으로부터 PBSA를 분해하는 세균을 분리하여, 16S rDNA 염기서열분석을 통해 분리균주를 동정하였다. 또한 PBSA 분해균의 분해활성을 증진시키는 요인에 관한 지식을 얻기 위해 균 접종량 및 반응온도를 달리하거나 질소원을 첨가하여 분해활성을 조사하였다. 또한 혼합배양이 PBSA의 분해활성 증진에 어떤 효과를 가져오는지에 관한 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

1. PBSA 분해균의 분리

PBSA는 수평균분자량 (number average molecular weight, Mn) 60,000 g mol⁻¹, 중량평균분자량 (weight average molecular weight, Mw) 130,000 g mol⁻¹인 것을 사용하였으며, (주)이래화학으로부터 공급받았다. 이를 분해하는 미생물의 분리를 위하여 멸칭필름을 씌워서 작물을 재배하는 밭과 비닐하우스 근처의 경작토, 쓰레기 매립토 및 낙엽으로 덮인 산의 부엽토를 우리나라 서울시 및 경기도 일대에서 채취하였다. 액체강화배지의 조성, PBSA 분해균의 분리 및 분해활성 측정을 위한 배지는 김과 이 (2007)의 방법에 따라 PBSA를 포함하는 무기염고체 배지를 사용하였다. 강화배양액을 단계희석하여 희석액 0.1 mL씩을 PBSA가 포함된 무기염고체배지에 도말한 후 27°C와 37°C 및 57°C에서 배양하고 약 3주 경과 후에 clear zone을 형성하는 콜로니를 순수분리 배양하고, clear zone의 직경을 측정하였다.

2. PBSA 분해균의 동정

PBSA 분해균의 동정은 분리균주의 DNA를 PCR하여 진행하는데, 16S rDNA 유전자를 증폭하기 위해서 universal primer fD1과 rP2을 사용하였다. 증폭 산물의 염기서열분석은 CLUSTAL W program을 사용하여 분석된 16S rDNA의 염기서열과 이와 유사한 염기서열을 가지는 속들의 관계를 정렬하였으며, Mega 3.1 program 내에서 이를 바탕으로 neighbor-joining 방법을 이용한 진화적 계통수를 작성하였다 (Kumar *et al.* 2004).

3. PBSA 분해균의 분해활성 측정

1) PBSA에 대한 분해활성

PBSA 분해균의 분해활성 측정은 미국 ASTM D 5209-92(1992)을 바탕으로 실험 장치를 구성하여 27°C에서



Fig. 1. SEM micrographs of the PBSA degrading strains ($\times 20,000$). (a) *Burkholderia cepacia* PBSA-4, (b) *Bacillus licheniformis* PBSA-5, (c) *Burkholderia* sp. PBSA-6.

35일간 진행하였으며, PBSA 분해균은 균체수를 약 1×10^9 cfu mL⁻¹ 되도록 준비하여 접종원으로 사용하였다. PBSA의 생분해도는 미생물에 의해 고분자의 탄소원자가 대사되어 발생하는 CO₂를 Ba(OH)₂로 포집한 뒤 HCl로 적정하여 CO₂ 이론발생량과 실험균의 CO₂ 발생량의 비율로 계산하였다. 그리고, 생분해도의 측정간격 및 기간은 CO₂의 포집 정도에 따라 조정하였으며, 3회 반복실험을 행하여 그 평균값을 제시하였다.

2) PBS, PCL, PLA, PE 및 PVA에 대한 분해활성

PBSA 분해균의 PBSA 외 다른 플라스틱에 대한 분리균주의 분해활성을 조사하기 위하여 각각의 플라스틱이 포함된 분산배지를 제조하여 clear zone test를 실시하였다. PBS는 Mn 43,000 g mol⁻¹, Mw 114,900 g mol⁻¹, PCL은 Mw 179,000 g mol⁻¹, PLA는 Mn 2,400 g mol⁻¹, Mw 5,000 g mol⁻¹인 것을 사용하였으며, 모두 (주)이래화학으로부터 공급받았다. PE는 탄소수가 16개로 이루어져 비교적 짧은 사슬로 구성된 hexadecane (Sigma)을 사용하였으며, poly(vinyl alcohol: PVA)의 경우에는 반복단위의 평균 분자량이 49.5이며, 중합도가 1,700인 것을 동양제철화학(주)로부터 공급받아 사용하였다.

4. PBSA 분해균의 PBSA 분해활성 증진

PBSA 분해균의 온도에 따른 PBSA 분해활성의 증진 여부는 PBSA를 포함하는 고체무기염배지에서 18일간 clear zone test (김과 이 2007)를 실시하여 측정하고, 액체무기염배지에서 40일간 ASTM D5209-91에 기초한 변형 Sturm test로 균 접종량의 변화, 질소원의 첨가 및 분리균주의 혼합배양에 대한 PBSA 분해활성의 증진 정도를 조사하였다. 온도는 17, 27, 37, 47 및 57°C로 설정하고, 균의 초기 접종량은 10^9 cfu g⁻¹, 10^{10} cfu g⁻¹ 및 10^{11} cfu g⁻¹로 달리하여 실험하였다. 질소원으로는 0.1% 또는 0.5%

의 gelatin, yeast extract 및 ammonium sulfate를 사용하였으며, 분리균주 두 주의 혼합 배양체에 대한 PBSA 분해활성을 조사하여 이들 요인들에 대한 PBSA 분해활성 증진 효과를 분석하였다.

결과 및 고찰

1. PBSA 분해균의 분리 및 동정

PBSA 분해균을 분리하기 위하여 서울시 관악구, 은평구 및 경기도 김포시 일대의 밭에서 경작토와 낙엽으로 덮인 산의 부엽토를 채취하여 clear zone test를 실시한 결과, Fig. 1에 제시한 바와 같이 약 1~2 μm 크기의 단간균 3주를 분리하였다. 현재까지 밝혀진 PBSA 분해균은 대부분 일본의 토양과 퇴비에서 분리되었다. 우리나라를 비롯한 아시아 일부 국가들의 토양에 대한 화학적 특성 조사 결과에 의하면 (RDA, 1988), 우리나라의 토양은 총 질소 0.18%와 유용인산 82 mg kg⁻¹인데 반해, 일본 토양의 경우에는 총 질소 0.29%와 유용인산 195 mg kg⁻¹로 나타났다. 우리나라 토양은 산성화가 진행된 부분이 많고 유기물 함량이 비교적 낮은 편에 속한다. 토양의 유기물 함량은 토양 내 미생물의 수와 종 다양성 및 토양 미생물의 활성에 영향을 미치므로 플라스틱의 분해활성도 다르게 나타날 것으로 보인다.

이들 분리균주에 대한 16S rDNA 염기서열분석 결과, 분리균주 PBSA-4는 *Burkholderia cepacia*, PBSA-5는 *Bacillus licheniformis* 및 PBSA-6은 *Burkholderia* sp.로 동정되었다.

2. PBSA 분해균의 PBSA 분해활성 측정

Fig. 2에 의하면 변형 Sturm test 40일 후 PBSA를 가

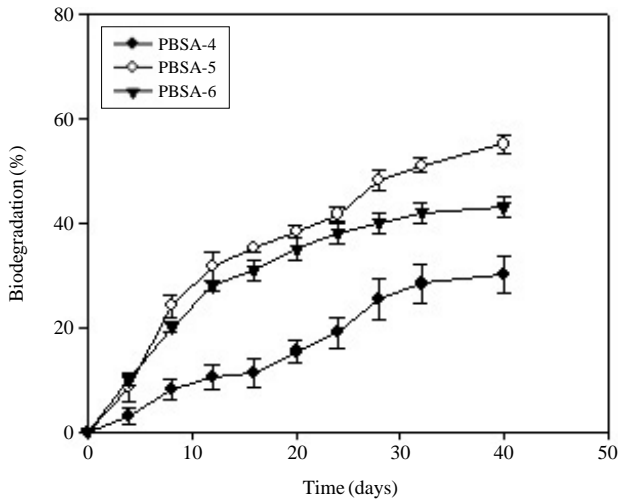


Fig. 2. The modified Sturm test results for the PBSA biodegradation by using bacteria isolated from soils.

Table 1. Degradation abilities of strains isolated in this study for various substrates through the clear zone test

Strain	Substrate*					
	PBSA	PBS	PCL	PLA	PE	PVA
PBSA-4	+	-	-	-	-	-
PBSA-5	+	-	-	-	-	+
PBSA-6	+	-	-	-	-	-

+: growth and forming the clear zone; -: growth but no forming the clear zone

* PBSA: poly(butylene succinate-co-butylene adipate); PBS: poly(butylene succinate); PCL: poly(ϵ -caprolactone); PLA: poly(lactic acid); PE: polyethylene; PVA: poly(vinyl alcohol)

장 많이 분해한 균주는 *B. licheniformis* PBSA-5로 55%의 PBSA 분해도를 보였으며, *B. cepacia* PBSA-4과 *Burkholderia* sp. PBSA-6은 각각 30%와 43%의 분해도를 보였다. Calil *et al.* (2006)에 따르면 진균 *Aspergillus niger*, *Penicillium pinophilum*, *Chaetomium globosum*, *Aerobasidium pullulans* 및 *Gliocadium virens*를 함께 배양하여 접종원으로 사용하여 Sturm test에서 CO₂ 생산량을 측정하였는데, 유도기를 거쳐 13일이 지난 후부터 CO₂ 생산량이 증가하였다고 보고하였다. 이에 비하여 본 연구에서 분리한 균주 *B. licheniformis* PBSA-5 및 *Burkholderia* sp. PBSA-6은 단독배양으로도 PBSA의 분해에 있어 현저한 유도기가 없이 분해가 시작되어 분해활성이 우수한 균주임을 알 수 있다. 김과 이 (2007)는 우리나라 20개 지역의 토양시료에서 clear zone test를 통해 PBSA 분해균 6주를 선발한 경우에도 유도기 없이 초기부터 빠르게 PBSA를 분해하여 변형 Sturm test 40일간 65~83%의 높은 분해활성을 나타내었다고 보고한 바 있다.

Table 2. Effect of temperature on the improvement of PBSA-degrading activity through the clear zone test

Isolates	Clear zone diameter (mm) after 18 days				
	17°C	27°C	37°C	47°C	57°C
<i>Burkholderia cepacia</i> PBSA-4	5.3	6.4	5.3	1.7	0
<i>Bacillus licheniformis</i> PBSA-5	3.4	4.8	4.4	4.1	0
<i>Burkholderia</i> sp. PBSA-6	4.8	6.6	5	0	0

Table 1은 PBS, PCL, PLA, PE 및 PVA에 대한 분리균주의 분해활성을 clear zone test를 통해 알아본 결과이다. 분리균주 중 *B. cepacia* PBSA-4 및 *Burkholderia* sp. PBSA-6은 PBSA가 포함된 고체무기염배지에서는 clear zone을 형성하지만 PBS, PCL, PLA, PE 및 PVA가 포함된 배지에서는 clear zone을 형성하지는 않았다. 그러나 *B. licheniformis* PBSA-5의 경우에는 PBSA뿐만 아니라 합성고분자의 한 종류로 생분해가 매우 느리게 일어나는 PVA가 포함된 경우에도 clear zone을 형성하였다. 이는 본 연구에서 분리한 균주 *B. licheniformis* PBSA-5의 경우 PBSA뿐만 아니라 PVA도 분해가 가능하기 때문에 산업적으로 매우 유용하게 사용될 수 있을 것으로 사료된다.

3. PBSA 분해활성 증진

1) 온도의 영향

온도에 따른 분리균주의 PBSA 분해활성 결과는 clear zone의 직경이 더 이상 증가하지 않는 18일 후에 측정하여 Table 2에 제시하였다. 분리균주 모두 온도가 17°C에서 27°C로 상승함에 따라 clear zone의 직경이 증가하였으나, 그 이상의 온도에서는 점차 감소하여 57°C에서는 clear zone을 형성하지 못하였다. 본 연구 결과 PBSA 분해균은 27°C에서 가장 빠른 성장과 가장 높은 PBSA 분해활성을 나타내는 중온성세균인 것을 알 수 있다.

Zhang *et al.* (2007)은 methyl tert-butyl ether (MTBE)로 오염된 토양으로부터 MTBE 분해균을 분리하여 *Chryseobacterium* sp. PSR10으로 동정하였다. MTBE가 포함된 Luria Bertani (LB) 배지에 균을 접종하고 온도에 따른 분해 정도를 알아본 결과, 12, 20, 25, 30 및 35°C의 온도에서 각각 43.5%, 48.9%, 52.3%, 52.6% 및 42.1%의 MTBE 분해도를 보였다. 분리균주에 대한 MTBE의 분해도는 25 및 30°C에서 가장 좋은 분해활성을 보였으며, 30°C 이상의 온도에서는 활성이 급격하게 감소하여 낮은 온도에서 MTBE를 더 잘 분해한다고 보고하였다.

2) 균 접종량의 영향

Fig. 3은 분리균주의 초기 접종량을 각각 10⁹ cfu mL⁻¹,

10^{10} cfu mL⁻¹ 및 10^{11} cfu mL⁻¹로 달리하여 변형 Sturm test를 수행한 PBSA의 생분해 실험결과이다. 접종량이 10^{10} cfu mL⁻¹일 때까지는 분해활성이 증가하다가 접종량이 10^{11} cfu mL⁻¹가 되면 분해활성이 조금 감소하는 것을 볼 수 있다. *B. cepacia* PBSA-4, *B. licheniformis* PBSA-5 및 *Burkholderia* sp. PBSA-6은 모두 접종량이 10^{10} cfu mL⁻¹일 때 PBSA 분해활성이 가장 많이 증진되었는데, 35일 동안 PBSA를 각각 54%, 70% 및 50% 생분해하였다. 이는 대조군에 비해 PBSA 분해활성이 약 1.2~1.3배 증가한 수치이다.

Chen *et al.* (2008)은 poly (cyclic aromatic hydrocarbons: PAHs) 분해 세균 *Sphingomonas* sp.를 분리한 후 균 접종량을 각각 10^3 , 10^4 , 10^5 및 10^6 MPN/g으로 달리하여 시간에 따른 PAH 분해반응속도상수, k (h⁻¹)를 측정하였다. 그 결과 접종량이 증가할수록 PAH의 k 값이 증가하였으며, 접종량이 10^5 MPN/g 이상에서 k 값이 급격하게 증가하였다고 보고하였다. Zhang *et al.* (2007)은 MTBE를 분해하는 데 있어 *Chryseobacterium* sp. A-3의 접종량을 각각 9×10^7 , 1.4×10^8 , 2×10^8 및 4.5×10^8 cfu mL⁻¹로 하였을 때 접종량이 증가할수록 MTBE가 더 많이 분해하였지만, 균 접종량이 어느 정도 이상으로 높을 경우에는 균에 의한 산소소비량 역시 증가하므로 2×10^8 cfu mL⁻¹

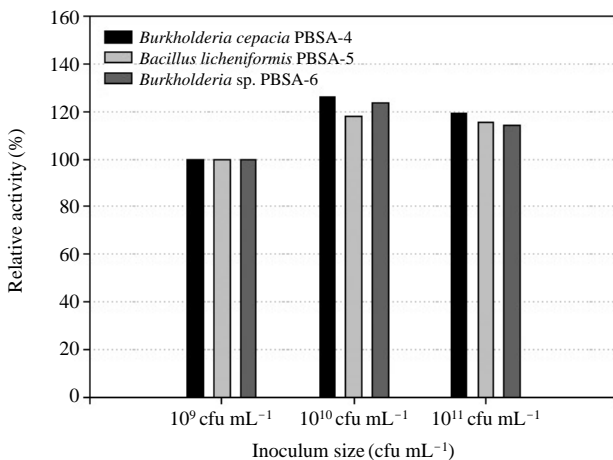


Fig. 3. Effect of inoculum size on the improvement of PBSA-degrading activity through the modified Sturm test.

가 최적 접종량이라고 보고한 바 있다.

3) 질소원의 영향

PBSA 분해균의 PBSA 분해활성을 증진시키기 위하여 질소원인 gelatin, yeast extract 및 ammonium sulfate를 각각 0.1 또는 0.5% 첨가한 후 PBSA의 분해활성 변화를 변형 Sturm test로 조사하여 Table 3에 그 결과를 나타내었다.

PBSA에 대한 분리균주의 분해활성은 질소원이 첨가됨에 따라 증가하였으며, 특히 0.1% (w/w) gelatin을 첨가하였을 때 PBSA 분해활성이 33% 정도 향상되었다. 이는 gelatin과 yeast extract와 같은 질소원이 첨가될 경우 균체의 단백질량이 증가하므로 질소를 이용하는 미생물의 경우 질소원의 첨가에 따라 단백질 합성이 더 용이하게 이루어지기 때문에 PBSA 분해에 필요한 효소도 더 많이 합성되었다고 할 수 있다. 또한 gelatin이나 yeast extract가 ammonium sulfate보다 분해활성의 향상에 더 효과적이므로 무기질소원보다 유기질소원이 PBSA의 분해 효소 합성을 더 용이하게 하는 것으로 사료된다. 김과 박 (2007)도 조절화된 퇴비화장치에서 *Geobacillus caldxylosilyticus* PLA-2에 의한 poly(L-lactide) (PLA)의 분해는 질소원인 gelatin, yeast extract 및 ammonium sulfate를 첨가할 때 분리균주의 생분해도가 39%에서 각각 52%, 47% 및 45%로 증가하였다고 보고하였다. Jean *et al.* (2008)도 중국의 활성슬러지로부터 분리한 *Pseudomonas* spp.를 이용하여 benzene, toluene 및 xylene (BTX)을 분해할 때 sulfate, phosphate 및 ammonium chloride와 같은 무기질소원을 첨가할 경우 미생물 성장 및 BTX 분해가 증진되었는데, 특히 sulfate와 phosphate를 첨가한 경우에 생물량이 현저하게 증가하였으나 ammonia chloride는 미생물의 성장에 크게 효과가 없었다고 하였다.

4) 혼합배양의 효과

Fig. 4는 분리균주 두 주를 혼합배양하여 PBSA의 분해활성을 변형 Sturm test를 통해 측정한 결과이다. Fig. 2에 제시한 바와 같이, *B. cepacia* PBSA-4, *B. licheniformis* PBSA-5 및 *Burkholderia* sp. PBSA-6을 단독배양하였을 때 각 균주의 PBSA 생분해도는 각각 30%, 55% 및 43%

Table 3. Effect of nitrogen sources on the improvement of PBSA-degrading activity through the modified Sturm test

Strain	Relative activity (%)						
	Control	0.1% Gelatin	0.5% Gelatin	0.1% Yeast extract	0.5% Yeast extract	0.1% Ammonium sulfate	0.5% Ammonium sulfate
<i>Burkholderia cepacia</i> PBSA-4	100	133	122	126	117	112	113
<i>Bacillus licheniformis</i> PBSA-5	100	120	113	116	112	111	103
<i>Burkholderia</i> sp. PBSA-6	100	131	126	119	120	112	112

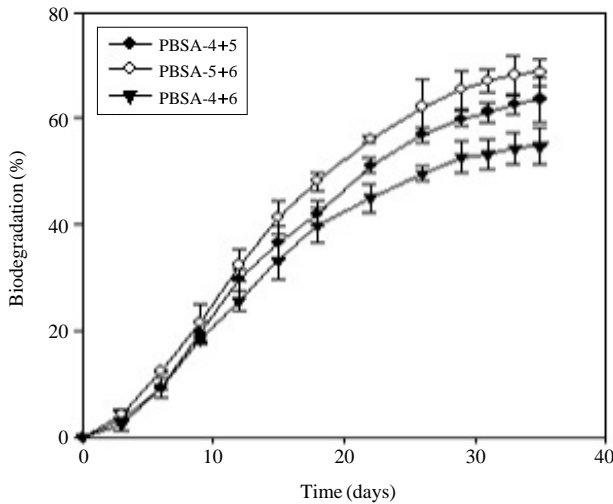


Fig. 4. Effect of mixed culture on the improvement of PBSA-degrading activity through the modified Sturm test.

인 반면, *B. licheniformis* PBSA-5 및 *Burkholderia* sp. PBSA-6을 혼합 배양하였을 때는 68%의 생분해도를 보여 분리균주를 단독배양할 때보다 혼합배양할 경우에 PBSA의 분해활성이 약 1.2배~2.1배까지 증진되었다. 이로부터 혼합배양이 분리균주의 PBSA 분해활성을 증진시키는 데 있어 효과가 있음을 알 수 있다.

또한 Salmeron-Alcocer *et al.* (2007)은 *Burkholderia* sp., *Microbacterium phyllosphaerae* 및 *Candida tropicalis*의 혼합배양에 따른 chlorophenol의 분해과정에서 균주의 단독배양보다 혼합배양에서 세포수가 증가하고 chlorophenol 농도가 감소하여 chlorophenol의 분해도는 92~100%에 이르렀다고 보고하였다. 이러한 결과를 보면 오염 물질의 분해에 있어 단독균주보다는 혼합균주가 더 효과적인 것으로 사료된다.

적 요

우리나라 서울시와 경기도 일대의 토양으로부터 poly(butylene succinate-co-butylene adipate: PBSA)를 분해하는 중온성세균 3주를 분리하였다. 0.01%의 PBSA film이 유일 탄소원으로 첨가된 변형 Sturm test에서 40일간 PBSA의 생분해도는 각 분리균주가 30%, 55% 및 43%를 나타내었으며, 이 중 *Bacillus licheniformis* PBSA-5의 경우는 PBSA뿐만 아니라 PVA에도 분해 활성을 나타내어 산업적으로 매우 유용하게 사용될 것으로 사료된다. 분리균주에 대한 16S rDNA 염기서열분석 결과로부터 각각 *Burkholderia cepacia* PBSA-4, *Bacillus licheniformis* PBSA-

5 및 *Burkholderia* sp. PBSA-6로 동정되었다.

분리균주들의 PBSA 분해 활성은 27°C에서 가장 높게 나타났으며, 47°C 이상의 고온에서는 분해 활성이 감소하였다. 초기 균 접종량이 10^{10} cfu mL⁻¹일 때 10^9 cfu mL⁻¹보다 PBSA의 분해 활성이 약 1.2~1.3배 증가하였다. 0.1 및 0.5%의 gelatin, yeast extract 및 ammonium sulfate를 첨가한 경우에 PBSA의 분해 활성이 증가하였는데, 특히 0.1% gelatin의 첨가는 PBSA의 분해 활성을 33% 증진시켰다. 또한 각 분리균주를 단독 배양할 때보다 두 균주를 혼합 배양한 경우는 PBSA의 분해 활성이 약 1.2배~2.1배까지 증진되어 PBSA의 생분해도는 54~68%에 도달하였다.

참 고 문 헌 **확인요망!!!**

- 김말남, 이선희. 2007. Screening of microorganisms with high poly(butylene succinate-co-butylene adipate)-degrading activity. 환경생물. 25(3):267-272.
- 김말남, 박상태. 2007. Isolation of a poly(L-lactide) degrading bacterium and improvement of its degradation capacity. 환경생물. 25(3):260-266.
- 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, U.S.A, 08-03.
- Calil MR, F Gaboardi, CGF Guedes and DS Rosa. 2006. Comparison of the biodegradation of poly(ϵ -caprolactone), cellulose acetate and their blends by the Sturm test and selected cultured fungi. Polymer Testing 25:597-604.
- Chen J, MH Wong, YS Wong and FY Nora. Tam. 2008. Multi-factors on biodegradation kinetics of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by *Sphingomonas* sp. a bacterial strain isolated from mangrove sediment. Mar. Pollut. Bull. 57:695-702.
- Hayase N, H Yano, E Kudoh, C Tsutsumi, K Ushio, Y MiYahara, S Tanaka and K Nakagawa. 2004. Isolation and characterization of poly(butylene succinate-co-butylene adipate)-degrading microorganism. J. Biosci. Bioeng. 97:131-133.
- Ishii NYI, T Tagaya, H Mitomo, D Nagai and K Kasuya. 2008. Isolation and characterization of poly(butylene succinate)-degrading fungi. Polym. Degrad. Stabil. In press.
- Jean JS, MK Lee, SM Wang, P Chattopadhyay and JP Maity. 2008. Effects of inorganic nutrient levels on the biodegradation of benzene, toluene, and xylene (BTX) by *Pseudomonas* spp. In a laboratory porous media sand aquifer model. Bioresource Technol. 99:7807-7815.

투고규정에 맞게 고쳐주세요!

- Kumar SKT and M Nei. 2004. MEGA3: Integrated software for molecular evolutionary genetic analysis and sequence alignment. *Briefings in Bioinformatics*. 5:150-163.
- Marija SN and J Djonlagic. 2001. Synthesis and characterization of biodegradable poly(butylene succinate-*co*-butylene adipate)s. *Polym. Degrad. Stabil.* 74:263-270.
- Salmeron-Alcocer A, N Ruiz-Ordaz, C Juarez-Ramirez and J Galindez-Mayer. 2007. Continuous biodegradation of single and mixed chlorophenols by a mixed microbial culture constituted by *Burkholderia* sp., *Microbacterium phyllosphaerae*, and *Candida tropicalis*. *Biochem. Eng. J.* 37:201-211.
- 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. *Biotechnol. Lett.* 25:23-28.
- Tomita K, Y Kuroki, N Hatashi and Y Komukai. 2000. Isolation of a thermophile degrading poly(butylene succinate-*co*-butylene adipate). *J. Biosci. Bioeng.* 90:350-352.
- Uchida HTNK, 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.
- Zhang RL, GQ Hunag, JY Lian and XG Li. 2007. Degradation of MTBE and TBA by a new isolate from MTBE-contaminated soil. *J. Environ. Sci.* 19:1120-1124.
- Zhao JH, XQ Wang, J Zeng, G Yang, FH Shi and Q Yan. 2005. Biodegradation of poly(butylene succinate-*co*-butylene adipate) by *Aspergillus versicolor*. *Polym. Degrad. Stabil.* 90:173-179.

Manuscript Received: December 12, 2008

Revision Accepted: April 28, 2009

Responsible Editor: Sun Il Kwon