

식용버섯과 진균 교차 배양을 활용한 플라스틱 필름의 생물학적 분해효과

최두호 · 이은지 · 안기홍 · 이강호*

농진청 국립원예특작과학원 인삼특작부 버섯과

Biodegradation effect of cross-cultivated fungi and edible mushrooms on plastic films

Doo-Ho Choi, Eunji Lee, Gi-Hong An, and Kang-Hyo Lee*

Mushroom Research Division, National Institute of Horticultural and Herbal Science, RDA, Eumseong, Chungbuk, Korea

ABSTRACT: Plastics are widely used in industries in human society and because of their structural stability, degradation is a serious global issue. To estimate the degradation of plastic, 31 edible mushrooms were cultured with the selected plastic films (polyethylene [PE], polystyrene [PS], and poly(ethylene terephthalate) [PET]) for 3 months at 25 °C. Measuring the weight of the films showed that four species of mushrooms, namely *Porostereum spadiceum*, *Ganoderma lucidum*, *Coprinellus micaceus*, and *Pleurotus ostreatus*, exhibited the highest degrees of plastic degradation. In addition, the mushrooms and fungi that exhibited the most significant plastic degradation were cross-cultured to promote this degradation. As a result, cross-cultivation of *G. lucidum* and *Aspergillus niger* showed a weight loss of 2.49% for the PET film. For the PS film, *Aspergillus nidulans* showed a weight loss of 4.06%. Cross-cultivation of *A. nidulans* and *C. micaceus*, which showed a weight loss of 2.95%, was noted as an alternative for PS biodegradation, but is harmful to humans. These bio-degradation effects of edible mushroom will contribute to the development of alternatives for eco-friendly plastic degradation.

KEYWORDS: Biodegradation, Cross-cultivation, Edible mushroom, Fungi, Plastic film

석유로 합성된 플라스틱은 우수한 내구성과 낮은 생산 단가로 인해 산업전반에서 활발히 활용되는 물질 중 하나이다 (Andrady, Neal, 2009). 이러한 플라스틱의 사용은 계속해서 증가하고 있으며, 2020년도 조사결과, 전세계적으로 플라스틱 제품 생산량이 367 million metric tons (MMT)에 이를 정도로 플라스틱 제품이 생산되었다 (PlasticEurope-Association

of Plastics Manufacturers, 2020). 그러나 플라스틱이 가진 화학적 결합 구조로 인해 자연에서 생물학적인 분해는 거의 일어나지 않고 있어 이로 인한 환경오염 문제가 대두되고 있다 (Verschoor *et al.*, 2022). 전세계적으로 발생하는 플라스틱 폐기물 중 오직 18% 만이 재활용되고 나머지는 소각되거나 매립되고 있다 (Chamas *et al.*, 2020). 또한 플라스틱 구조적 안정성으로 인해 자연에서 분해가 잘 되지 않아 2050년에는 발생하는 플라스틱 폐기물이 2050 MMT에 이를 것으로 전망된다 (Geyer *et al.*, 2017).

플라스틱의 구조는 탄소 구조를 바탕으로 크게 2개 그룹으로 나뉘며, polyethylene terephthalate (PET) 등이 포함된 이종원자 구조로 연결된 폴리머 구조와 polyethylene (PE)와 polystyrene (PS) 등이 포함된 탄소간 연결구조로 구성되어 있다 (Zhang *et al.*, 2022). 최근에는 이들 중 PE와 PS를 대상으로 분해를 위한 실험들이 진행되고 있다. PE는 플라스틱 가방이나 필름, 장난감, 우유병 등에 이용될 정도로 가장 널리 사용되는 플라스틱 물질로 성질에 따라 low-density PE (LDPE), linear LDPE (LLDPE), branched LDPE, medium-density PE (MDPE), high-density PE (HDPE)로 나뉜다 (Bardaji *et al.*, 2020). PS 또한 PE와

J. Mushrooms 2024 March, 22(1):31-36
<http://dx.doi.org/10.14480/JM.2024.22.1.31>
 Print ISSN 1738-0294, Online ISSN 2288-8853

© The Korean Society of Mushroom Science
 Doo-Ho Choi(Postdoctoral Researcher), Eunji Lee(Agricultural Researcher),
 Gi-Hong An(Senior Researcher), Kang-Hyo Lee(Agricultural Researcher)

*Corresponding author
 E-mail : gamchoduhho@naver.com
 Tel : +82-43-873-5716, Fax : +82-43-873-5702

Received December 7, 2023

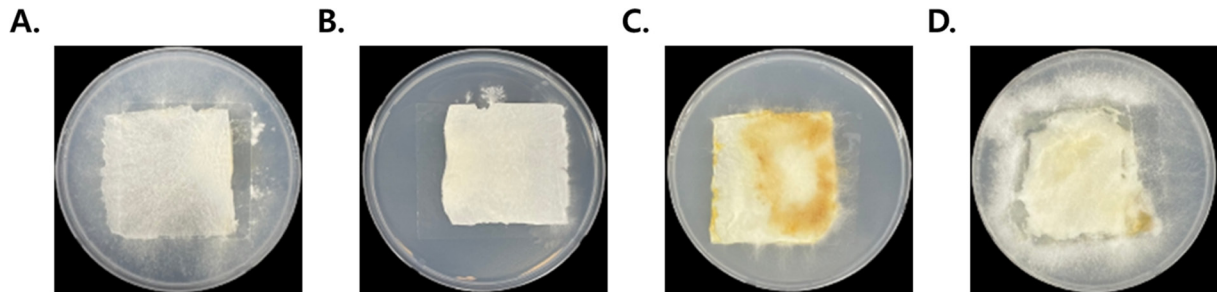
Revised December 20, 2023

Accepted January 29, 2024

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Table 1. List of edible mushroom for plastic film biodegradation

Scientific name	Sample	Scientific name	Sample
<i>Agaricus bisporus</i>	K1156	<i>Trametes suaveolens</i>	K4301, K4829
<i>Pleurotus sajor-caju</i>	K1274	<i>Pholiota squarrosa</i>	K4347
<i>Pleurotus cystidiosus</i>	K1376	<i>Morchella esculenta</i>	K4392, K4407, K4971
<i>Pleurotus ostreatus</i>	K2085, K2805	<i>Cerrena unicolor</i>	K4406
<i>Lentinula edodes</i>	K2423	<i>Irpex lacteus</i>	K4615
<i>Flammulina velutipes</i>	K2551	<i>Porostereum spadiceum</i>	K4616
<i>Ganoderma lucidum</i>	K2822, K4970	<i>Annulohyphoxylon truncatum</i>	K4617
<i>Grifola frondosa</i>	K3139	<i>Phanerochaete laevis</i>	K4629
<i>Armillaria mellea</i>	K3203	<i>Coprinellus micaceus</i>	K4632
<i>Perenniporia</i> sp.	K3337	<i>Ceriporia viridans</i>	K4709
<i>Tricholoma matsutake</i>	K3829, K3830, K3831	<i>Volvariella</i> sp.	K4796
<i>Daedalea dickinsii</i>	K4056	<i>Abortiporus biennis</i>	K4849
<i>Trametes coccinea</i>	K4073	<i>Panellus serotinus</i>	K4900
<i>Gymnopus peronatus</i>	K4105	<i>Stereum complicatum</i>	K4908
<i>Clitocybe nebularis</i>	K4122	<i>Amanita muscaria</i>	K4917
<i>Hypocrea rufa</i>	K4284, K4298		

**Fig. 1.** Photo of mycelium of mushroom and plastic film after 3 months cultivation. A) *Porostereum spadiceum*. B) *Ganoderma lucidum*. C) *Coprinellus micaceus*. D) *Pleurotus ostreatus*.

같이 플라스틱 제품의 주요 구성요소이며 주요 제품으로는 스티로폼, 포장용품, 음식물 보관통 등에 사용된다.

플라스틱 폐기물 문제를 해소하기 위해 화학적 작용과 생물학적 작용이 소개되고 있다. 화학적 작용은 다량의 루테놀을 촉매제로 열분해로 플라스틱 분해를 일으키지만 (Wang *et al.*, 2021), 2 차 공해 등의 문제를 안고 있다. 반면 생물학적 작용은 플라스틱 구조 내 사슬 구조를 효소작용으로 분해하여 최종적으로 플라스틱을 분해시키는 방법이며 이러한 방법은 2 차 공해 문제를 동반하지 않는다는 이점이 있어 그 연구가 활발히 이뤄지고 있다 (Zhang *et al.*, 2022). 미생물을 활용한 플라스틱 분해실험은 PE, PS, PET를 대상으로 활발히 이뤄졌으며 진균 (Sheela, Sangeetha, 2011)과 세균 (Naz *et al.*, 2013)은 물론 밀웜 (Lou *et al.*, 2021)을 활용한 분해 실험들이 다수 보고 되었다. 또한 기존 미생물들과는 달리 식용 버섯을 활용

한 플라스틱 분해 실험도 시도되고 있으며 느타리속 버섯들이 PE와 PS를 탄소원으로 활용하며 성장한다는 것을 확인하였다 (Hock *et al.*, 2019). 본 실험에서도 플라스틱에 대한 분해능을 가진 버섯류를 확보하기 위해 선별된 31 종의 식용버섯(표 1)을 대상으로 플라스틱에 대한 분해 여부를 확인하였다. 또한 플라스틱에 대한 분해 효과 증대를 위한 진균과 식용 버섯을 교차 배양 또한 진행되었다.

모든 실험은 3회 반복을 수행하였으며 확보된 데이터는 GraphPad Prism과 InStat V.3 (GraphPad, San Diego, CA, USA)를 이용하여 통계처리 및 분석이 진행되었다. 실험 평균치에 대한 유의성 검사는 one way analysis of variance (ANOVA)를 통해 진행되었다.

기존 버섯 활용 실험을 참조하여 분해 유도 대상인 플라스틱 샘플 PE, PS, PET (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO,

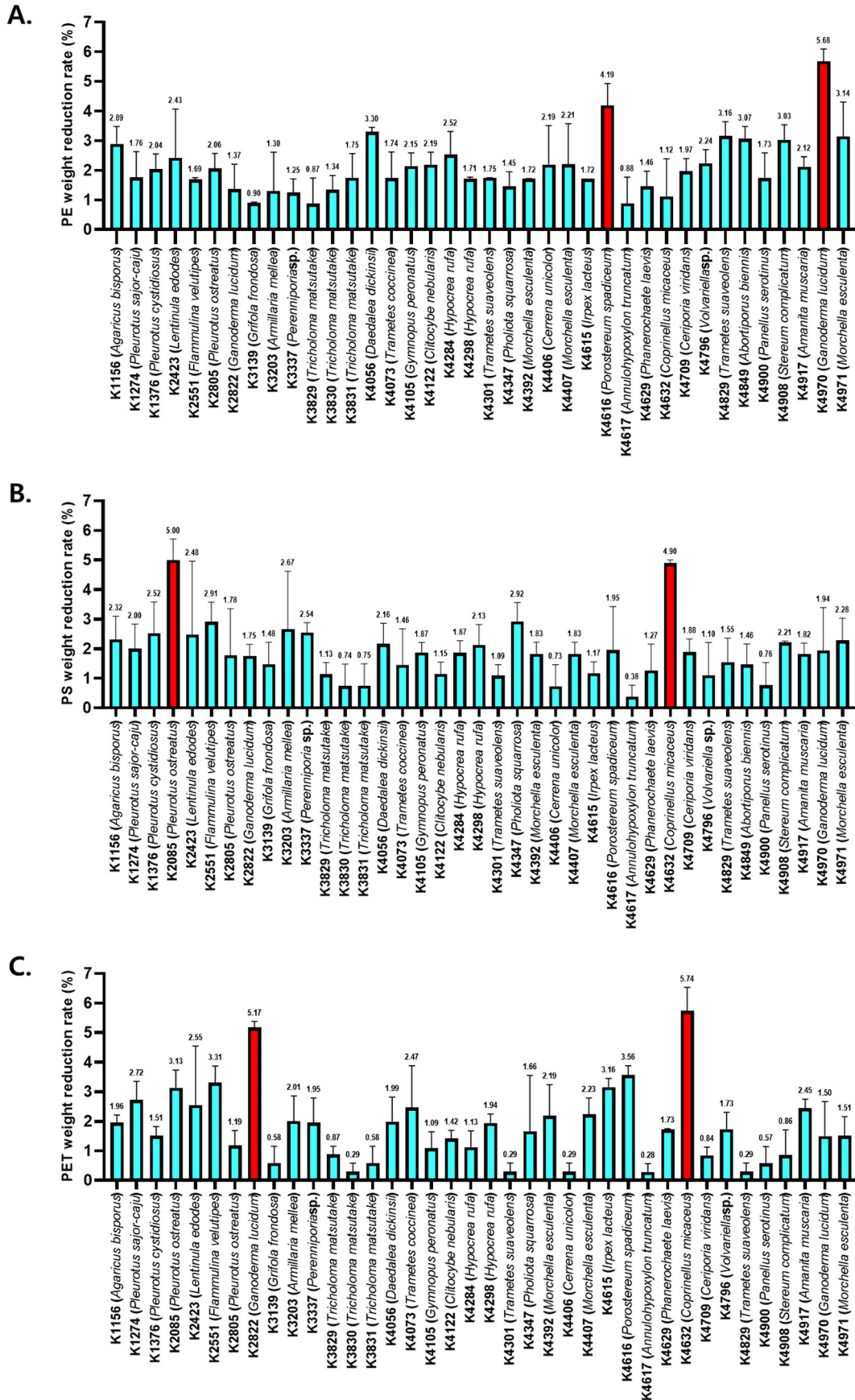


Fig. 2. Comparison of bio-degradation effects on plastic film by mushroom. A) Bio-degradation on PE film. B) Bio-degradation on PS film. C) Bio-degradation on PET film.

Table 2. List of mushroom and fungi for cultivation with plastic film

Sample	1 st cultivation	2 nd cultivation	Sample	1 st cultivation	2 nd cultivation	Sample	1 st cultivation	2 nd cultivation
PE_ver_4616	<i>Asp. versicolor</i>	KMCC04616 (<i>Por. spadiceum</i>)	PS_nig_4632	<i>Asp. niger</i>	KMCC04632 (<i>Cop. micaceus</i>)	PT_fla_4632	<i>Asp. flavus</i>	KMCC04632 (<i>Cop. micaceus</i>)
PE_4616_ver	KMCC04616 (<i>Por. spadiceum</i>)	<i>Asp. versicolor</i>	PS_4632_nig	KMCC04632 (<i>Cop. micaceus</i>)	<i>Asp. niger</i>	PT_4632_fla	KMCC04632 (<i>Cop. micaceus</i>)	<i>Asp. flavus</i>
PE_ver_4970	<i>Asp. versicolor</i>	KMCC04970 (<i>Gan. lucidum</i>)	PS_nig_2085	<i>Asp. niger</i>	KMCC02085 (<i>Ple. ostreatus</i>)	PT_fla_2822	<i>Asp. flavus</i>	KMCC02822 (<i>Gan. lucidum</i>)
PE_4970_ver	KMCC04970 (<i>Gan. lucidum</i>)	<i>Asp. versicolor</i>	PS_2085_nig	KMCC02085 (<i>Ple. ostreatus</i>)	<i>Asp. niger</i>	PT_2822_fla	KMCC02822 (<i>Gan. lucidum</i>)	<i>Asp. flavus</i>
PE_sim_4616	<i>Pen. simplicissimum</i>	KMCC04616 (<i>Por. spadiceum</i>)	PS_nid_4632	<i>Asp. nidulans</i>	KMCC04632 (<i>Cop. micaceus</i>)	PT_nig_4632	<i>Asp. niger</i>	KMCC04632 (<i>Cop. micaceus</i>)
PE_4616_sim	KMCC04616 (<i>Por. spadiceum</i>)	<i>Pen. simplicissimum</i>	PS_4632_nid	KMCC04632 (<i>Cop. micaceus</i>)	<i>Asp. nidulans</i>	PT_4632_nig	KMCC04632 (<i>Cop. micaceus</i>)	<i>Asp. niger</i>
PE_sim_4970	<i>Pen. simplicissimum</i>	KMCC04970 (<i>Gan. lucidum</i>)	PS_nid_2085	<i>Asp. nidulans</i>	KMCC02085 (<i>Ple. ostreatus</i>)	PT_nig_2822	<i>Asp. niger</i>	KMCC02822 (<i>Gan. lucidum</i>)
PE_4970_sim	KMCC04970 (<i>Gan. lucidum</i>)	<i>Pen. simplicissimum</i>	PS_2085_nid	KMCC02085 (<i>Ple. ostreatus</i>)	<i>Asp. nidulans</i>	PT_2822_nig	KMCC02822 (<i>Gan. lucidum</i>)	<i>Asp. niger</i>
PE_4616_4616	KMCC04616 (<i>Por. spadiceum</i>)	KMCC04616 (<i>Por. spadiceum</i>)	PS_4632_4632	KMCC04632 (<i>Cop. micaceus</i>)	KMCC04632 (<i>Cop. micaceus</i>)	PT_4632_4632	KMCC04632 (<i>Cop. micaceus</i>)	KMCC04632 (<i>Cop. micaceus</i>)
PE_4970_4970	KMCC04970 (<i>Gan. lucidum</i>)	KMCC04970 (<i>Gan. lucidum</i>)	PS_2085_2085	KMCC02085 (<i>Ple. ostreatus</i>)	KMCC02085 (<i>Ple. ostreatus</i>)	PT_2822_2822	KMCC02822 (<i>Gan. lucidum</i>)	KMCC02822 (<i>Gan. lucidum</i>)
PE_ver_ver	<i>Asp. versicolor</i>	<i>Asp. versicolor</i>	PS_nig_nig	<i>Asp. niger</i>	<i>Asp. niger</i>	PT_fla_fla	<i>Asp. flavus</i>	<i>Asp. flavus</i>
PE_sim_sim	<i>Pen. simplicissimum</i>	<i>Pen. simplicissimum</i>	PS_nid_nid	<i>Asp. nidulans</i>	<i>Asp. nidulans</i>	PT_nig_nig	<i>Asp. niger</i>	<i>Asp. niger</i>

USA) 각각을 확보한 후, 가로 5 cm, 세로 5 cm 규격의 필름들로 조성하였다 (Hock *et al.*, 2019). 플라스틱 필름들을 선별된 31 종 버섯균의 탄소원으로 활용하기 위해 pH 7.3, 1.5% Agar powder가 혼합된 Czapek-broth carbon free 배지 (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)에서 필름과 버섯균을 함께 25°C, 암 상태에서 3 개월 동안 배양하였다(그림 1). 2014 년 논문 내용을 참조하여 (Bhardwaj *et al.*, 2014), 2% sodium dodecyl sulphate (SDS; Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) 용액에 플라스틱 필름을 4 시간 동안 배양하여 표면에 대한 살균처리를 진행하였다. 살균처리가 완료된 필름을 증류수로 세척한 후 65°C 오븐처리를 하여 건조시켜 무게를 측정함으로써 버섯균에 의한 플라스틱 분해 정도를 나타내었다. 측정 결과 PE 필름 대상으로 버섯균 K4970 (영지)와 K4616 (종이버섯)이 각각 5.68%와 4.06%로 가장 높은 무게감소 효과를 보였다. PS 필름 대상으로 K2085 (느타리)와 K4632

(갈색먹물버섯)이 각각 5.00%와 4.90%의 무게감소효과를, PET 필름 대상으로 K4632 (갈색먹물버섯)과 K2822 (영지)가 각각 5.74%와 5.17%의 무게감소효과를 보였다(그림 2). 이후 확인된 각각의 버섯균을 확보한 후 진균과의 교차 배양을 진행하여 동일한 플라스틱에 대한 분해 효과를 확인하였다.

최근 미생물 활용 플라스틱 분해 실험 결과를 참조하여 (Zhang *et al.*, 2022), 농촌진흥청의 씨앗은행으로부터 진균 5점 (*Aspergillus versicolor*, *Asp. niger*, *Asp. nidulans*, *Asp. flavus*, *Penicillium simplicissimum*)을 확보하였다. 선별된 버섯균과 진균을 각각 Czapek-broth carbon free 액체배지에서 25°C 배양하여 배양액을 확보한 후, 플라스틱 필름을 대상으로 2주씩 나누어 총 4주간의 교차 배양을 진행한 후 살균처리된 플라스틱 필름의 무게를 측정하였다. 이때 살균과정은 앞서 선별된 31 종의 버섯을 활용한 플라스틱 분해실험에서와 동일한 살균과정을 거쳤다. 측정된 무게는 1차, 2차 배양 시

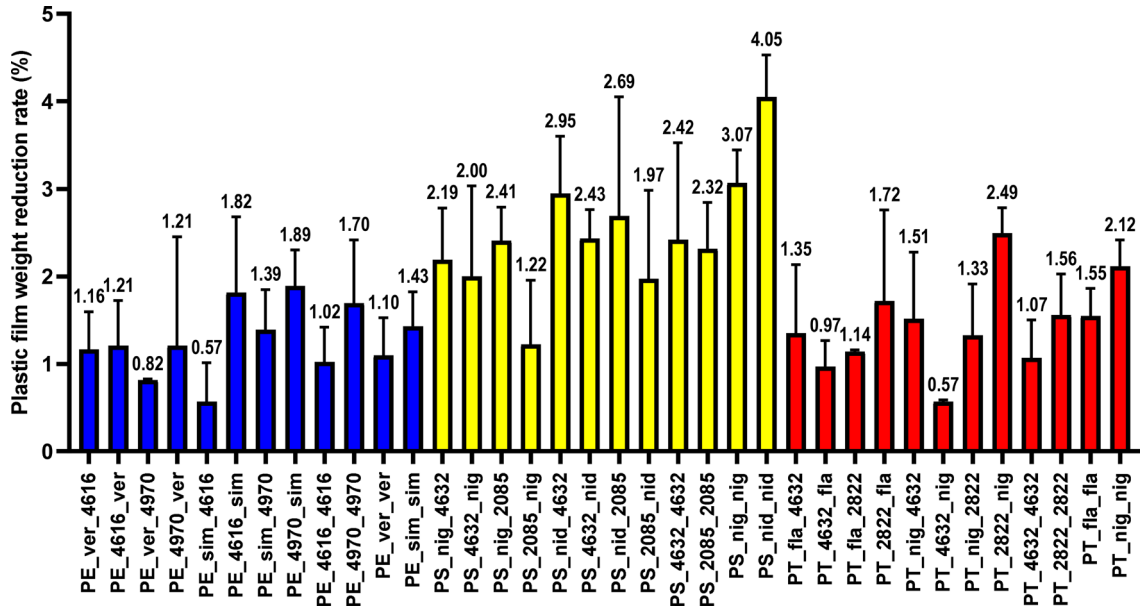


Fig. 3. Comparison of bio-degradation effects on plastic film by cross-cultivation of fungi and mushroom.

모두 진균을 접종한 플라스틱을 대조군으로 선정하였으며 진균과 버섯균을 교차 배양하거나 버섯균만을 배양한 실험 결과값과 비교하였다(표 2). 각 플라스틱 필름들 중 PS 필름에서 가장 높은 분해 효과가 나타났으며 이는 각각 *Asp. niger*와 *Asp. nidulans*의 분해 효과 (각각 3.07% 무게 감소, 4.06% 무게 감소 발생)에 의한 것이었다(그림 3). 이는 동일한 필름에 적용한 갈색먹물버섯과 느타리버섯의 작용 (각각 2.42% 무게 감소, 2.31% 무게 감소 발생)과 비교 시 더 높은 분해 효과를 보여주었으며, 버섯과 진균을 교차 배양한 것 중 가장 분해 효과가 높았던 PS_nid_4632 (2.95%) 보다도 높은 분해 결과를 보였다. 그러나 일반적으로 무해한 것으로 알려진 *Aspergillus nidulans*에 의해 만성 육아종증 (CGD) 환자에게 인체에 유해할 수 있다는 사례가 확인되었으며 (Henriet *et al.*, 2012), 버섯균과 혼용하여 사용함으로써 인체에 대한 유해성을 줄일 수 있을 것으로 기대된다. 다만 본 연구에서는 교차 배양된 PS_nid_4632와 PS_nid_nid 간 유의적인 차이가 없기 때문에 ($P>0.05$), 추가적인 자료 확보를 통해 통계의 신뢰성을 확보할 필요가 있다. PS 다음으로 분해 결과가 높았던 PET의 경우 영지버섯과 *Asp. niger*를 교차적으로 배양한 PT_2822_nig에 의해 무게 감소율 2.49%의 가장 높은 플라스틱 분해 결과를 보였다. 그러나 해당 결과는 진균만 접종시켜 배양시킨 PT_fla_fla와 PT_nig_nig의 결과와 유의미한 차이가 없기 때문에 ($P>0.05$), 추가적인 실험을 통해 유의미한 차이가 나타난 결과값을 확보하여 다시 비교할 필요가 있다.

적 요

친환경적인 플라스틱 분해를 위한 연구의 한 종류로 버섯

균을 활용한 플라스틱 분해 유도를 위해 본 실험을 진행하였다. 본 실험에서는 주변에서 구하기 쉽고 인체에 유해할 가능성이 낮은 식용 버섯을 활용하여 인체 안정성을 더한 플라스틱 분해 기술을 개발하고자 하였으며 31 종의 버섯균들을 대상으로 플라스틱 PE, PS, PET 필름에 대한 분해 효과를 관찰하였다. 본 연구과정에서 4종의 버섯(종이비늘버섯, 영지버섯, 갈색먹물버섯, 느타리)에 의한 플라스틱 분해 효과를 관찰하였으며, 진균과의 교차 배양을 통해 플라스틱 분해 효과를 촉진시킬 수 있는지를 확인하였다. 해당 확인 과정에서 PS에 대한 분해 효과가 가장 높게 나타났으며 이는 진균 *Asp. nidulans*의 작용에 의한 것이었다. 그러나 *Asp. nidulans*가 가진 유해성 (Henriet *et al.*, 2012)으로 인해 인체에 무해한 식용버섯균의 활용이 필요하다고 판단되며 비록 버섯균만을 활용한 분해 결과는 저조하나 진균과 버섯균을 교차 배양한 분해 효과는 *Asp. nidulans*에 의한 분해 효과에 근접하다고 볼 수 있다. 또한 PET에 대해서는 오히려 PT_2822_nig의 사례와 같이 교차 배양한 샘플이 더 높은 수치의 플라스틱 분해 효과를 보였다. 비록 두 실험 결과값들이 유의성을 보이지 못해 추가적인 보완실험이 요구되고 있으나 해당 실험을 통해 버섯균을 활용한 플라스틱 분해 유도 또한 세균, 진균, 밀웜 등을 활용한 분해 유도 과정과 비교하여 경쟁성을 보이고 있다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 국립원예특작과학원 시험연구사업 (과제번호 PJ015830022023)에 의하여 수행된 결과의 일부로서 국립원예특작과학원 전문연구원 과정 지원사업에 의해 이루어진 것이며, 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- Andrady AL, Neal MA. 2009. Applications and societal benefits of plastics. *Philos Trans R Soc B* 364(1526): 1977–1984. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0304>.
- Bardaji DKR, Moretto JAS, Furlan JPR, Stehling EG. 2020. A mini-review: current advances in polyethylene biodegradation. *World J Microbiol Biotechnol* 36(2): 32. <https://doi.org/10.1007/s11274-020-2808-5>.
- Bhardwaj T, Bhardwaj V, Sharma K, Gupta A, Cameotra SS, Sharma P. 2014. Thermo-acoustical analysis of sodium dodecyl sulfate: fluconazole (antifungal drug) based micellar system in hydro-ethanol solutions for potential drug topical application. *J Chem Thermodyn* 78 1–6.
- Chamas A, Moon H, Zheng J, Qiu Y, Tabassum T, Jang JH, Abu-Omar M, Scott SL, Suh S. 2020. Degradation rates of plastics in the environment. *ACS Sustain Chem Eng* 8(9): 3494–3511. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.9b06635>.
- Geyer R, Jambeck JR, Law KL. 2017. Production, use, and fate of all plastics ever made. *Sci Adv* 3 (7). <https://doi.org/10.1126/sciadv.1700782> e1700782/1700781–e1700782/1700785.
- Henriet SSV, Verweij PE, Warris A. 2012. *Aspergillus nidulans* and chronic granulomatous disease: a unique host-pathogen interaction. *J Infect Dis* 206(7): 1128–1137.
- Hock OG, Lum HW, De Qin D, Kee WK, Shing WL. 2019. The growth and laccase activity of edible mushrooms involved in plastics degradation. *Researchgate. Toxicology*. 15.
- Lou Y, Li Y, Lu B, Liu Q, Yang SS, Liu B, Ren N, Wu WM, Xing D. 2021. Response of the yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) gut microbiome to diet shifts during polystyrene and polyethylene biodegradation. *J Hazard Mater* 416: 126222. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126222>.
- Naz I, Batool SA, Ali N, Khatoon N, Atiq N, Hameed A, Ahmed S. 2013. Monitoring of growth and physiological activities of biofilm during succession on polystyrene from activated sludge under aerobic and anaerobic conditions. *Environ Monit Assess* 185(8): 6881–6892. <https://doi.org/10.1007/s10661-013-3072-z>.
- PlasticEurope-Association of Plastics Manufacturers (2020). Plastics – the Facts 2020. *Brussels: PlasticEurope* 1–64.
- Sheela R, Sangeetha J. 2011. Isolation and identification of fungi to degrade plastics. *J Ecotoxicol Environ Monit* 21(5): 497–499.
- Verschoor JA, Kusumawardhani H, Ram AFJ, de Winde JH. 2022. Toward microbial recycling and upcycling of plastics: prospects and challenges. *Front Microbiol* 13: 821629. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.821629>.
- Wang C, Xie T, Kots PA, Vance BC, Yu K, Kumar P, Fu J, Liu S, Tsilomelekis G, Stach EA, Zheng W, Vlachos DG. 2021. Polyethylene hydrogenolysis at mild conditions over Ruthenium on tungstated zirconia. *JACS Au* 1(9): 1422–1434. <https://doi.org/10.1021/jacsau.1c00200>.
- Zhang Y, Pedersen JN, Eser BE, Guo Z. 2022. Biodegradation of polyethylene and polystyrene: from microbial deterioration to enzyme discovery. *Biotechnol Adv* 60: 107991.