

*Stenotrophomonas maltophilia*에 의한 PPC-PVL과 PVL의 분해

박 숙 경 · 주 현 · 조 성 기 · † 김 동 욱 · ¹오 광 중 · ²이 문 호
인제대학교 제약공학과, ¹부산대학교 환경공학과, ²포항공과대학교 화학과
(접수 : 2004. 7. 20., 게재승인 : 2005. 2. 11.)

Biodegradation of PPC-PVL and PVL by *Stenotrophomonas maltophilia*

Suk Kyoung Park, Hyun Ju, Sung Ki Cho, Donguk Kim†, Kwang Joong Oh¹, and Moonhor Ree²
Department of Pharmaceutical Engineering, Inje University, Gimhae, Gyongnam 621-749, Korea
¹Department of Environmental Engineering, Pusan National University, Busan 609-735, Korea
²Department of Chemistry, Pohang University of Science and Technology, Pohang 790-784, Korea
(Received : 2004. 7. 20., Accepted : 2005. 2. 11.)

Polypropylene carbonate-polyvalerolactone (PPC-PVL) and polyvalerolactone (PVL) produced from exhausted carbon dioxide were degraded by *Stenotrophomonas maltophilia* separated from soils of waste landfill. The biodegradation was confirmed by FTIR spectrum. PPC-PVL and PVL were degraded 6.6%, 12% respectively, at 28 days of pure *Stenotrophomonas maltophilia* culture.

Key Words : Biodegradation, PPC-PVL, PVL, FTIR, *Stenotrophomonas maltophilia*

서 론

중요한 온실가스인 이산화탄소는 지구온난화의 주요인으로 지목되고 있으며(1), UN 등의 국제기관에서는 이의 중요성을 감안해 각국에 이산화탄소 배출의 감소를 강력히 권하고 있다(2). 공장 등에서 발생하는 이산화탄소를 줄이는 방법 중 이것을 이용하여 일상생활에 필요한 플라스틱 등의 화학제품을 만드는 것이 매우 효과적이다.

일반적으로 분자량이 높은 고분자화합물들은 안정하여 생물학적으로 분해가 어렵다고 알려져 있다. 그러나 poly-β-hydroxybutyrate (PHB)(3), 지방족 polycarbonate(4), polycaprolactones(5), polylactic acid(6) 등 일부 고분자화합물의 생물학적 분해가 보고되어지고 있다. 또한 이들을 분해하는 일부효소도 발견되어, polytetramethylene carbonate는 *Candida cylindracea*에 존재하는 cholesterol esterase와 *Pseudomonas sp.*의 lipoprotein lipase에 의해 분해된다고 보고되었다(7).

Polycarbonate는 높은 충격강도를 나타내며, 열안정성이 좋고 투명하여 콤팩트디스크, 창유리, 헬멧 등에 널리 사용되고 있으며, 크게 방향족화합물과 지방족화합물로 나뉘어진다(8).

본 연구에서는 이 등(9, 10)이 이산화탄소를 활용하여 제조한 지방족 polycarbonate인 polypropylene carbonate-polyvalerolactone (PPC-PVL)과 poly valerolactone (PVL)에 대한 생분해도를 측정하였다. 다양한 고분자화합물의 쓰레기가 매립되어진 곳에서 토양샘플을 채취하여 2종의 polycarbonate를 함유한 일정한 배지에서 배양한 후 polycarbonate의 분해를 FTIR로 확인하였다. 그리고 혼합균주에서 polycarbonate를 분해하는 단일균주를 분리하였고, 그 분해속도를 측정하였다.

재료 및 방법

포항공대 이 교수 등으로부터 폐 CO₂를 활용하여 제조된 PPC-PVL (Mw: 84,000-161,000, PPC 52 mol%, PVL 48 mol%)과 PVL (Mw: 28,000)(Fig. 1)을 획득하였다. 토양샘플은 10년 전 매립이 완료된 부산시 을숙도의 3-4 m 깊이의 심층토를 이용하였다. 미생물배양을 위한 배지조성은 다음과 같다(11, 12). (g/L) K₂HPO₄ 1.77, KH₂PO₄ 0.68, NaCl 0.14, CaCl₂ 0.132, MgSO₄ 0.2, Sodium Succinate 5, biotin 4 × 10⁻⁵,

† Corresponding Author : Department of Pharmaceutical Engineering, Inje University, Gimhae 621-749, Korea,
Tel : +82-55-320-3396, Fax : +82-55-327-4955
E-mail : pedkim@inje.ac.kr

$\text{FeSO}_4 \cdot 2.53 \times 10^{-3}$, $\text{H}_3\text{BO}_3 \cdot 2.9 \times 10^{-3}$, $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} \cdot 1.2 \times 10^{-3}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O} \cdot 1 \times 10^{-4}$, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O} \cdot 9 \times 10^{-5}$, $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} \cdot 2.5 \times 10^{-3}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} \cdot 1.2 \times 10^{-3}$, H_2O 1L. 위의 배지성분 150 ml가 함유된 플라스크에 2 조각씩 (50-150 mg)의 PPC-PVL 이나 PVL을 넣고 토양샘플 1 g을 주입하여 30°C, pH 7.0의 조건에서 30일간 배양하였다.

PPC-PVL과 PVL의 분해도는 FTIR을 이용하여 확인하였다. FTIR은 FTIR spectrophotometer (Shimadzu, Japan)를 사용하였으며, 2-4 mg의 polycarbonate를 포함한 400 mg의 KBr 용액을 사용하였다. Polycarbonate의 건조무게는 다음과 같이 측정되었다. 플라스크에서 샘플을 핀셋으로 꼬집어 낸 후, 증류수로 세척하고, 3분간 sonicator로 파쇄하여 미생물을 시료에서 제거하였고, 다시 증류수로 세척한 후, 40°C의 건조기에서 2시간동안 건조된 다음 전자저울로 측정되었다. 무게가 측정된 샘플은 다시 원래의 플라스크에 재주입되었다.

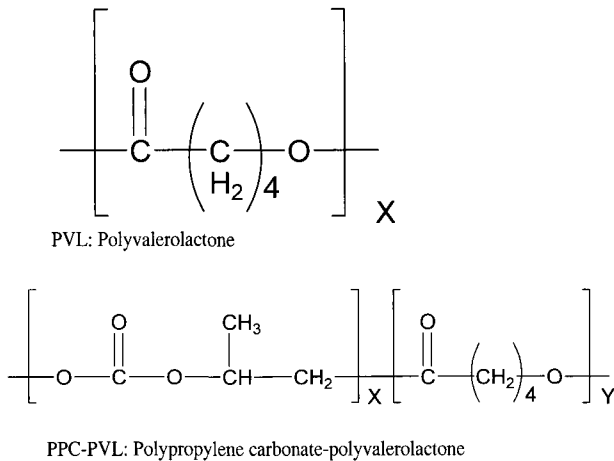


Figure 1. Chemical structures of PVL and PPC-PVL.

결과 및 고찰

부산시 흡속도매립장의 토양으로부터 배양된 혼합균주를 함유한 플라스크에서 원시료와 30일간 미생물에 접촉한 후의 PPC-PVL과 PVL의 FTIR 측정결과가 Fig. 2와 Fig. 3에 나타나 있다. 원시료에서는 PPC-PVL과 PVL의 주된 특징인 ester기 (1732/cm)의 peak가 크게 나타나며(Fig. 2(A), Fig. 3(A)), 알콜기 (3430/cm)의 peak는 거의 없거나 미미하였다. 이에 비해 미생물과 접촉한 후의 시료(Fig. 2(B), Fig. 3(B))에서는 비교적 큰 알콜기의 peak가 관찰되어 ester group의 일부가 분해되어 알콜이 생성됨을 확인할 수 있었다.

PPC-PVL과 PVL을 분해하는 플라스크에서 일정용액을 취하여 각각의 PPC-PVL과 PVL의 조각이 함유된 고품배지에 도말하고, 30°C의 조건에서 40일간 incubator에 놓아두었다. 그 결과 각 polycarbonate 주위에 뚜렷한 균주를 관찰할 수 있었다. 위 균주를 채집하여 균주의 동정을 위해 (주)MicroID에 의뢰한 결과 16S rDNA의 분석에 따라 *Stenotrophomonas maltophilia* LMG958T로 동정되었다. *Stenotrophomonas* species은 물, 냉동식품, 식물의 근권 등에서 다양하게 검출되는 균으로 알려져 있다(13).

분리된 *Stenotrophomonas maltophilia*만을 함유한 배지에서 PPC-PVL과 PVL의 분해도를 관찰한 결과가 Table 1에 나타나 있다. 28일동안 150 ml의 플라스크용액에서 PPC-PVL의 중량은 6.6% 감소하였고, PVL은 12% 감소하였다. 이를 분해속도로 환산하면 PPC-PVL과 PVL은 모두 0.29 mg/day였다. 배양 후 28일 시점에서 용액 중 *Stenotrophomonas maltophilia*의 건조중량농도는 0.07 mg/mL이었다. 비록 고분자의 종류는 다르지만 위의 결과를 isotactic polypropylene의 생분해속도와 비교하면(12), polypropylene의 경우 중량이 175일간 40% 감소하여서 그 분해속도는 유사한 범위에 있음을 알 수 있다. 따라서 본 연구로부터 폐 CO₂를 이용하여 제조된 PPC-PVL과 PVL의 일부 생분해성을 확인할 수 있었다.

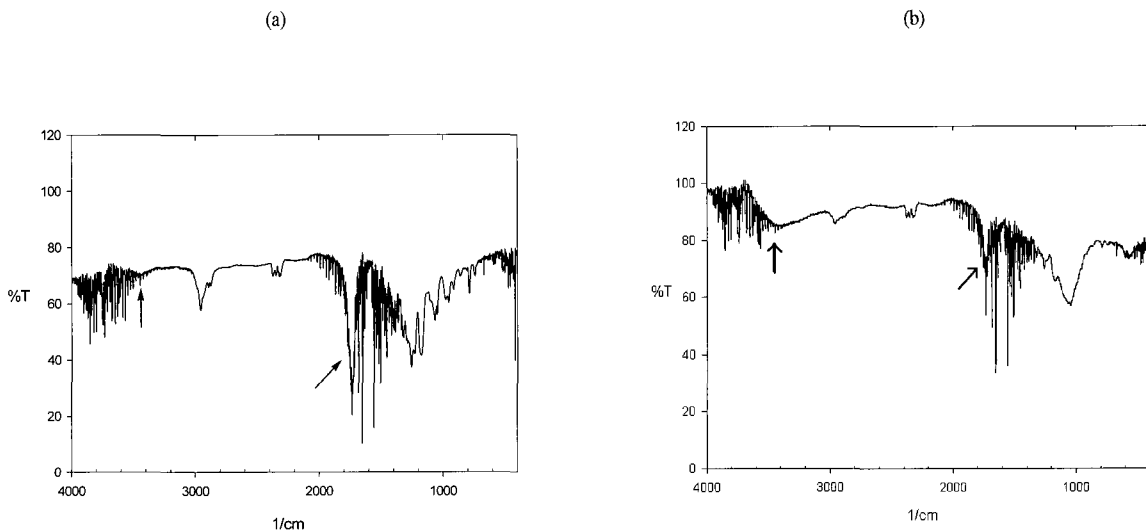


Figure 2. FTIR spectra of PPC-PVL degradation by microbial consortium ((A) before degradation (B) at 28 days of degradation).

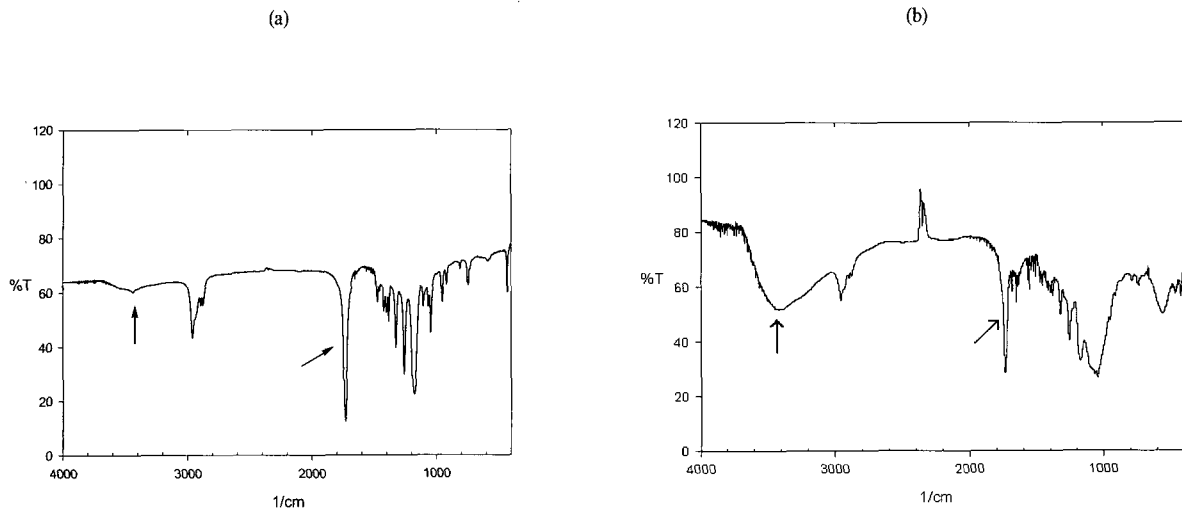


Figure 3. FTIR spectra of PVL degradation by microbial consortium ((a) before degradation (b) at 28 days of degradation).

Table 1. Change of dry weight of PPC-PVL and PVL for culture time with *Stenotrophomonas maltophilia* at 30°C and pH 7.0 [mg]

polycarbonate	day	0	7	14	21	28
PPC-PVL		122	122	119	117	114
PVL		65	59	59	58	57

요약

폐 CO₂를 이용하여 제조된 PPC-PVL과 PVL은 부산시 을숙도매립장의 토양에서 분리된 *Stenotrophomonas maltophilia*에 의해 일부 생분해되었다. 생분해는 FTIR로 확인되었으며, 28일간의 배양에서 PPC-PVL의 중량은 6.6%, PVL은 12% 감소하였다.

REFERENCES

- Broecker, W. S. (1997), Thermohaline circulation, the achilles heel of our climate system: will man-made CO₂ upset the current balance?, *Science* **278**, 1582-1586.
- Houghton, J. T., B. A. Callander, and S. K. Varney (1992), Climate Change 1992: The supplementary report to the IPCC scientific assessment, Cambridge University, Cambridge.
- Mergaert, J. and J. Swings (1996), Biodiversity of microorganisms that degrade bacterial and synthetic polyesters, *J. Ind. Microbiol.* **17**, 463-469.
- Nishida, H. and Y. Tokiwa (1994), Confirmation of poly(1,3-dioxolan-2-one) degrading microorganisms in environment, *Chem. Lett.* 421-422.
- Benedict, C. V., W. J. Cook, P. Jarrett, J. A. Cameron, S. J. Huang, and J. P. Bell (1983), Fungal degradation of polycaprolactones, *J. Appl. Polym. Sci.* **28**, 327-334.
- Pranamuda, H., Y. Tokiwa, and H. Tanaka (1997), Polylactide degradation by an *Amycolatopsis* sp., *Appl. Environ. Microbiol.* **63**, 1637-1640.
- Suyama, T. and Y. Tokiwa (1996), Enzymatic degradation of an aliphatic polycarbonate, poly(tetramethylene carbonate), *Enzyme Microb. Technol.* **20**, 122-126.
- Ulrich, H. (1993), Introduction to industrial polymers, 2nd ed., p150, Carl Hanser Verlag, Munich.
- Ree, M., J. Y. Bae, J. H. Jung, and T. J. Shin (1999), A new copolymerization process leading to poly(propylene carbonate) with a highly enhanced yield from carbon dioxide and propylene Oxide, *J. Polym. Sci., Part A* **37**, 1863-1876.
- Ree, M., J. Y. Bae, J. H. Jung, T. J. Shin, Y.-T. Hwang, and T. Chang (2000), Copolymerization of carbon dioxide and propylene oxide using various zinc glutarate derivatives as catalysts, *Polym. Eng. Sci.* **40**, 1542-1552.
- Cacciari, I., D. Lippi, S. Ippoliti, T. Pietrosanti, and W. Pietrosanti (1989), Response to oxygen of diazotrophic *Azospirillum brasilense-Arthrobacter giacomelloi* mixed batch culture, *Arch. Microbiol.* **152**, 111-114.
- Cacciari, I., P. Quatrini, G. Zirletta, E. Mincione, E. Vinciguerra, P. Lupattelli, and G. Giovannozzi-Sermanni (1993), Isotactic polypropylene biodegradation by a microbial community: physicochemical characterization of metabolites produced, *Appl. Environ. Microbiol.*, **59**, 3695-3700.
- Wolf, A., A. Fritze, M. Hagemann, and G. Berg (2002), *Stenotrophomonas rhizophila* sp. nov. a novel plant-associated bacterium with antifungal properties, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **52**, 1937-1944.