

<연구논문(학술)>

## 미더덕껍질 셀룰로오스의 매립 생분해성에 대한 연구

성금용 · 이승현 · 임상구 · 손흥주<sup>1</sup> · 이영희<sup>2</sup> · 황대연 · 정영진<sup>†</sup>

부산대학교 바이오소재과학과/생명융합연구원, <sup>1</sup>부산대학교 생명환경화학학과,  
<sup>2</sup>부산대학교 유기소재시스템공학과

### Study for Biodegradability of Cellulose Derived from *Styela clava* tunics

Keum-Yong Seong, Seunghyun Lee, Sang-Gu Yim, Hong Joo Son<sup>1</sup>, Young-Hee Lee<sup>2</sup>,  
Dae Youn Hwang and Young Jin Jung<sup>†</sup>

Department of Biomaterials Science/Life and Industry Convergence Research Institute, Pusan National University, Miryang, Korea

<sup>1</sup>Department of Life Science and Environment Biochemistry, College of Natural Resources and Life Science,  
Pusan National University, Miryang, Korea

<sup>2</sup>Department of Organic Material Science and Engineering, College of Engineering, Pusan National University, Busan, Korea

(Received: January 2, 2015 / Revised: February 5, 2015 / Accepted: May 20, 2015)

**Abstract:** To investigate the biodegradation of the cellulose powder(CP) derived from *Styela clava* tunics(SCT), some physico-chemical properties and biodegradability of SCT-CP were measured after the incubation for 45 days. The particles size of SCT-CP prepared with washing, bleaching, drying, and grinding processes was 150-400  $\mu\text{m}$  although most of particles (70%) was more than 400  $\mu\text{m}$ . The cellulose structures of SCT-CP detected using the X-ray diffraction and DSC analysis was very similar with that of wood pulp powder(WP-CP). The glass transition temperature was not detected in both samples. Furthermore, more than 90% of the SCT-CP was degraded, whereas only over 70% of the WP-CP was degraded after the incubation for 45 days. Therefore, these results suggest the possibility that SCT-CP is particularly applicable to prepare medical fiber and film for disease treatment.

**Keywords:** *styela clava tunic*, *wood pulp*, *cellulose*, *glass transition temperature*, *biodegradation*

## 1. 서 론

미더덕(*Styela clava*)은 척삭동물문 미색동물아문에 속하는 해양생물로<sup>1,2)</sup>, 1980년대 중반부터 본격적인 양식이 시작되면서 어민의 소득증대에 기여하고 있다. 미더덕은 일본, 중국, 호주, 북아메리카, 유럽의 해안뿐만 아니라<sup>3-5)</sup> 우리나라 남해안에서만 양식되고 있는데, 경상남도 진동 및 고성에서 우리나라 소비량의 80% 정도를 생산하고 있다. 생산량이 가장 많은 시기는 4월에서 7월 사이로 단단한 껍질을 제거하고 근막체를 생으로 먹거나 염지하여 즐겨먹는 독특한 향과 맛을 가진 식품으로 소비되고 있다<sup>6)</sup>. 그러나 현재까지 미더덕은

생산량의 증가도 불구하고 미더덕껍질(*Styela clava* tunics; SCT)은 전량 폐기물로 처리되어 바닷가 등에 버려져 환경오염의 문제로 대두되고 있다.

SCT 추출물에는 지질, 회분, 단백질, 다당류가 포함되어 있는데, 특히 히알루론산, 황산 콘드로이틴이 포함된 글리코사미노글리칸 성분이 주를 이루고 있다<sup>8)</sup>. SCT의 뼈대를 이루는 성분으로  $\beta$ -1,4 글루코시드 결합을 갖는 셀룰로오스 미세 섬유가 메쉬 형태로 얽혀진 형태로 존재하며<sup>9,10)</sup>, 정련 처리 후 94%의 높은  $\alpha$ -셀룰로오스 수율을 나타낸다<sup>7)</sup>.

SCT를 활용한 연구로 SCT에서 추출한 황산 콘드로이틴을 이용하여 기능성 화장품으로서의 가능성을 세포를 이용하여 탐색하는 연구가 보고되어 있고<sup>8)</sup>, SCT를 고농도의 산과 알칼리를 고온에서 장기간 처리 한 후 연마하는 방법을 사용하여 막을 만든 후 골 재생 효능을 가진 생활성막에 대한 개발이 연구된 바 있다<sup>11)</sup>.

<sup>†</sup>Corresponding author: Young Jin Jung (hlb@pusan.ac.kr)  
© 2015 The Korean Society of Dyers and Finishers.  
All rights reserved. TCF 27-2/2015-6/149-154

NMMO/H<sub>2</sub>O 용매를 사용하여 SCT 셀룰로오스를 용해 한 후 필름을 제조하여 특성을 분석한 연구<sup>7)</sup> 및 SCT와 PVA(polyvinyl alcohol)을 블렌딩한 후 파이버 형태로 제조하고 그 물성에 대한 연구가 진행되어 있다<sup>12)</sup>.

이온성액체로서 양이온은 1-methylimidazole, 음이온은 ally chloride로 합성한 [Amim]Cl 용매에 SCT를 용해한 후 제조한 필름에 대해 흡수성, 동물실험을 통한 생분해성, 독성 및 생체적합성에 관한 연구가 보고된 바 있다<sup>13)</sup>. 그러나 미더덕 양식과 관련한 환경오염을 예방하기 위하여 매립 생분해성에 대한 연구는 진행된 바가 없다.

따라서 본 연구에서는 SCT를 분말형태로 제조하여 매립에 의한 생분해성에 관해 연구하고자 하였고, 천연 식물성 셀룰로오스인 목재 펄프 셀룰로오스와 동물성 셀룰로오스인 미더덕껍질 셀룰로오스의 분해성능을 비교하고자 하였다.

## 2. 실험

### 2.1 SCT 셀룰로오스 분말(SCT-CP)의 제조 및 입도 분석

실험에 사용된 SCT는 경상남도 진동에서 1차 세척 후 자연건조 된 상태의 것을 받아서 사용하였다. SCT의 정제를 위해 일반 목재로부터 90% 이상의 α-셀룰로오스를 얻는 공정 중 NaOH를 사용하는 크라프트법을 활용하였다<sup>14)</sup>. 단백질을 제거하기 위해 SCT와 10wt% NaOH 수용액의 비율을 1:30으로 하여 120℃에서 3시간 동안 가열한 후 수세하였다. 무기염 등의 불순물과 헤미셀룰로오스 제거 및 중화를 위해 알칼리 처리된 SCT와 5wt% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>수용액을 1:30의 비율로 하여 120℃에서 3시간 동안 가열하였다. 알칼리 및 산 처리된 SCT는 10wt% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>수용액과 1:30의 비율로 100℃에서 1시간동안 가열하여 표백처리 하였다. 표백된 SCT는 열풍건조기로 건조시킨 뒤 pin milling M/C(Daehwa, Korea)을 사용하여 40mesh에서 1회, 120mesh에서 3회 분쇄하여 분말형태로 제조하였다. 대조군으로서 중합도(Dp)가 1160인 목재펄프 셀룰로오스(WP-CP)가 사용되었다.

SCT-CP의 입도분포를 알아보기 위해 증류수에 0.01g/ml의 농도로 분산시킨 후 입도분석기(ELS-Z, Photal Otsuka Electronics, Japan)를 사용하여 분석하였다.

### 2.2 SCT-CP의 결정 구조 분석

XRD 분석(Ultima IV, Rigaku, USA)은 CuK α-I-

radiation에서 가속전압 40kV, 전류 30mA로 하여 반사법으로 측정하였다. Diffraction pattern은 Bragg's angle 2θ = 8° - 40° 사이에서 2°/min의 속도로 측정하였다.

### 2.3 SCT-CP의 열적 특성 분석

WP-CP와 SCT-CP의 열적 특성을 조사하기 위해 시차주사열량계(DSC Q20 V24.4 Build 116, TA Instruments, USA)를 사용하여 질소기류 하에서 20℃/min의 승온 속도로 -80℃에서 300℃까지 승온시켜 열적 특성을 조사하였다.

WP-CP와 SCT-CP의 열안정성과 열분해 거동을 관찰하기 위해 열중량분석기(TGA Q500 V20.1 Build 36, TA Instruments, USA)를 사용하여 질소기류 하에서 10℃/min의 승온 속도로 35-800℃의 범위에서 중량감소 변화를 조사하였다.

### 2.4 SCT-CP의 생분해도 측정

SCT-CP의 매립 생분해도를 측정하기 위해 퇴비화 조건에서 플라스틱의 호기성 생분해도 및 붕괴도의 측정법으로 적정에 의해 발생하는 CO<sub>2</sub>의 정량법을 사용하였다. 호기성 생분해도는 KS M 3100-1에 따라, 퇴비화 용기를 일정 온도인 58±2℃에서 45일 동안 배양할 때 발생된 CO<sub>2</sub>양으로부터 측정하였다. 생분해도는 발생한 CO<sub>2</sub>의 양을 시료의 이론적 CO<sub>2</sub>발생량에 대한 백분율로 계산하였고, 각 용기 내 시험 물질로부터 발생할 수 있는 이론적 CO<sub>2</sub>발생량은 다음 식(1)을 이용하여 계산하였다.

$$ThCO_2 = M_{TOT} \times C_{TOT} \times 44/12 \dots\dots\dots (1)$$

여기서 M<sub>TOT</sub>는 시험 시작 시 퇴비에 첨가된 SCT-CP의 총 건조 고형분의 양(g)을 의미하고, C<sub>TOT</sub>는 SCT-CP의 총 건조 고형분에 포함된 유기탄소의 비율(g/g)을 의미한다.

생분해도는 방출되는 CO<sub>2</sub>의 누적량으로부터 각 측정 간격 별로 SCT-CP의 생분해도를 다음 식(2)을 통해 계산하였다.

$$D_t = [(CO_2)_T - (CO_2)_B] / ThCO_2 \times 100 \dots\dots\dots (2)$$

D<sub>t</sub>는 생분해도(%), (CO<sub>2</sub>)<sub>T</sub>는 SCT-CP가 담긴 퇴비화 용기로부터 발생한 CO<sub>2</sub>의 누적량(g), (CO<sub>2</sub>)<sub>B</sub>는 blank에서 방출되는 CO<sub>2</sub> 누적량의 평균(g), ThCO<sub>2</sub>는 용기 속 SCT-CP에 의해 발생하는 이론적 CO<sub>2</sub>양(g)을 의미한다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1 SCT-CP의 입도분포

SCT는 산·알칼리 처리 및 표백 과정을 거쳐 불순물을 제거하였고, 산 처리 후 82%, 알칼리 처리 후 34%, 표백 처리 후 31%의 수율로 회수되었다<sup>7)</sup>. 그 후 분쇄하여 WP-CP와 SCT-CP의 입자 크기를 비교하였다.

WP-CP는 400nm~150 $\mu$ m의 범위로 입자가 분포되어 있고, 400nm 크기의 입자가 70% 이상으로 가장 많은 양을 차지하였다(Figure 1A, Figure 1C).

SCT-CP는 5~200 $\mu$ m의 범위로 입자가 분포되어 있고, 5 $\mu$ m 크기의 입자가 대부분의 분포를 차지한다(Figure 1B, Figure 1D).

#### 3.2 SCT-CP의 결정구조

셀룰로오스 결정구조의 현재까지 보고 된 형태는 cell I, II, III, IV의 4가지 형태로 나누어지고, 화학

처리 방법에 따라 각각의 결정 구조를 나타낸다. 천연 셀룰로오스의 경우 cell I의 결정 구조를 가지며<sup>15)</sup>, 머셔화 또는 재생된 셀룰로오스는 cell II의 결정구조를 가지며<sup>16)</sup>, 유기아민 시약에 셀룰로오스를 침지시킨 후 시약을 제거하면 cell III의 결정구조를 가진다<sup>17)</sup>. Cell II, III을 열처리 하였을 경우 cell IV의 결정구조를 얻을 수 있다<sup>18)</sup>.

SCT-CP의 결정구조를 분석하기 위하여 WP-CP와 SCT-CP의 x-ray 회절 패턴을 분석하였다. 일반적으로 cell I 구조인 펄프 셀룰로오스의 경우  $2\theta = 14.6^\circ$ 와  $16.4^\circ$ 에서 각각 (101)면과 (10 $\bar{1}$ )면의 회절피크가 doublet으로 나타나고,  $2\theta = 22.6^\circ$ 에서 (002)면의 회절 피크가 강하게 나타난다<sup>19)</sup>.

본 연구에서 사용한 WP-CP의 경우  $2\theta = 13^\circ - 17^\circ$ 에 걸쳐 broad하게 보이는 회절피크는  $14.6^\circ$ (101)면과  $16.4^\circ$ (10 $\bar{1}$ )면의 두 피크의 doublet이며,  $2\theta = 22.6^\circ$ (002)면에 sharp한 단일 피크가 나타나는 것으로 보아 전형적인 표백한 크라프트 펄프 셀룰로오스인 것으로

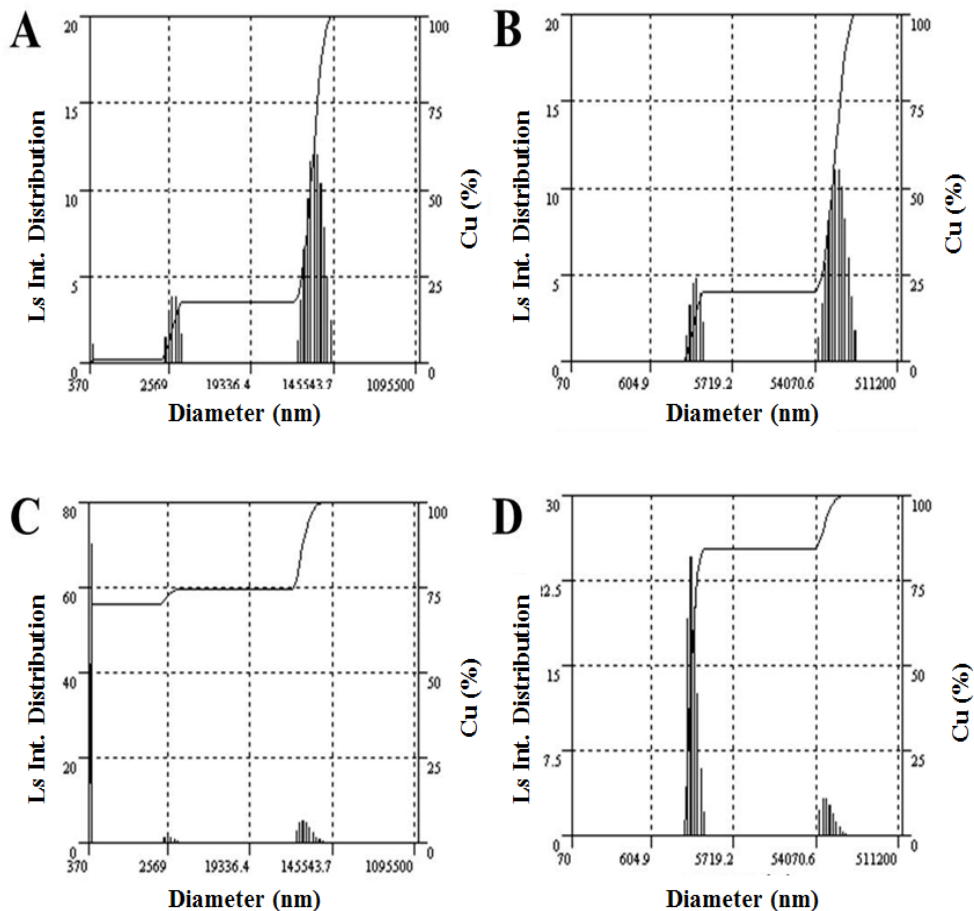


Figure 1. The distribution profiles according to particle size in a WP-CP(A, C) and SCT-C(B, C).

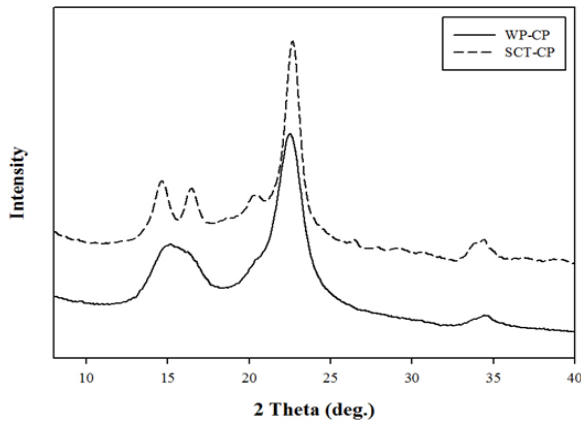


Figure 2. The X-ray diffraction of WP-CP and SCT-CP.

확인 되었다.

SCT-CP의 경우  $2\theta = 14.5^\circ(101)$ 면과  $2\theta = 16.4^\circ(10\bar{1})$ 면에 각각 나타난 이유는 정제과정에서 단백질을 제거하기 위하여 사용한 알칼리 처리 효과에 의하여 머서화로 인한 비결정이 생성된 cell II가 본래의 cell I과 혼재된 상태라고 생각된다. 각각의 피크 모양과 크기는 cell I과 cell II의 비율에 의하여 결정되며 SCT-CP는 cell I : cell II = 25 : 75 정도의 비율이 문헌상의 패턴과 대조했을 때 거의 동일하였다<sup>20)</sup>.

### 3.3 SCT-CP의 열적 특성

일반적으로 셀룰로오스는 강한 수소결합과 높은 결정화도로 인해 용해되지 않고 분해가 먼저 일어나므로 일정한 용점을 가지지 않는다. 셀룰로오스를 포함한 다당류 계열의 천연고분자들은 유리전이온도 또한 뚜렷하지 않아 사용하는 용매와 온도에 따라 조금씩 달라진다<sup>21)</sup>.

DSC 측정에 의해 얻어진 WP-CP와 SCT-CP에 대한 열적 특성에 대한 분석결과는 Figure 3A에 제시하였다. 100°C 부근의 흡열 피크는 분말에 있던 수분의 증발에 의한 것으로 생각된다.

SCT-CP는 WP-CP와 같이 일반적인 셀룰로오스와 비슷한 형태의 피크로 큰 차이점을 찾을 수 없었고, 특정한 유리전이온도를 나타내지 않았다.

셀룰로오스의 초기 열분해 온도는 250-270°C 부근에서 일어난다고 알려져 있다<sup>22,23)</sup>. WP-CP와 SCT-CP의 열분해 거동은 200°C부근의 무게 손실은 물의 증발에 의한 것으로 사료된다. WP-CP와 SCT-CP는 250-270°C에서 분해가 시작되는 것을 알 수 있었다. 400°C에서

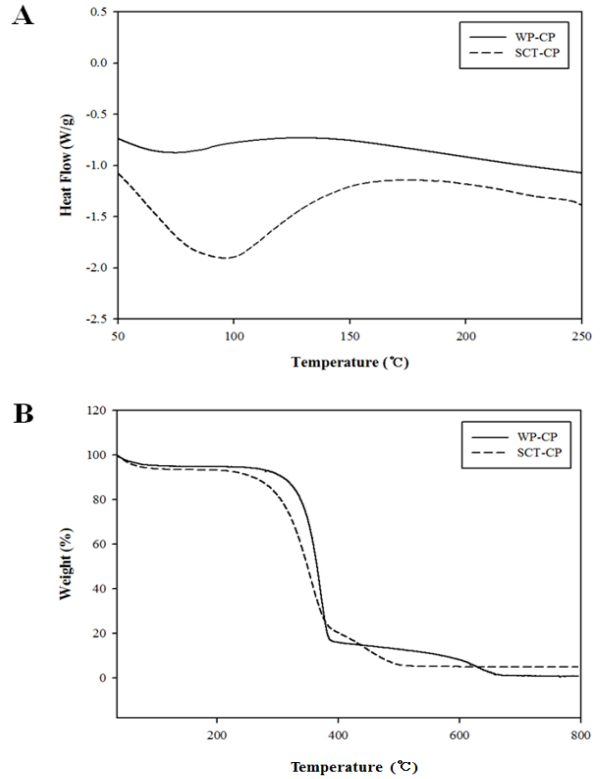


Figure 3. The DSC(A) and TGA(B) of WP-CP and SCT-CP.

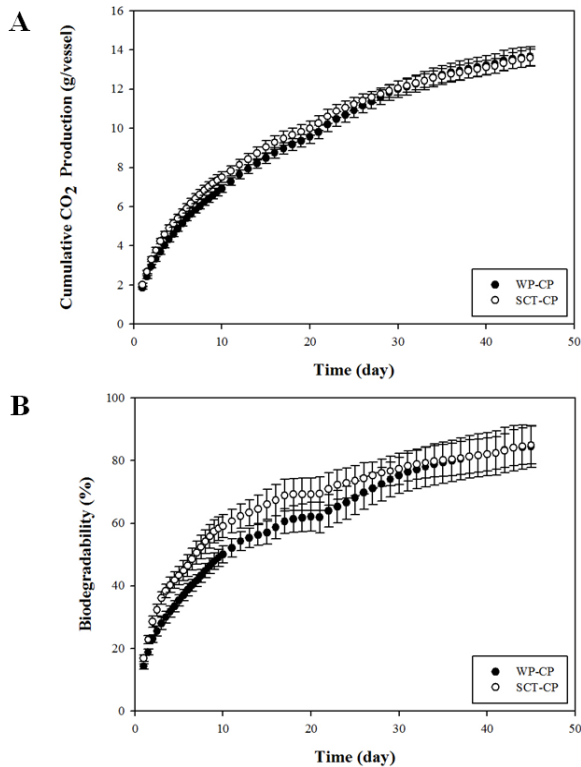
WP-CP, SCT-CP 모두 70% 이상의 열분해를 보였다 (Figure 3B).

### 3.4 SCT-CP의 생분해도 측정 결과

생분해성 고분자가 자연계에 존재하는 다양한 미생물에 의해 분해되기 위해서는 미생물이 분비하는 가수분해 효소의 촉매작용으로 고분자구조가 붕괴되고 저분자화되는 ‘1차 분해’가 발생하여야 한다. 이렇게 1차적으로 분해된 저분자 물질을 미생물이 흡수하여 대사작용을 한 후 최종적으로 생체물질과 물, 이산화탄소, 메탄가스 등을 생성하는 ‘최종분해’과정으로 이루어진다. 이러한 생분해성 고분자의 생분해도는 시험물질의 이론적 이산화탄소 발생량과 실제 시험물질로부터 발생하는 이산화탄소량의 비율로 결정된다.

KS M 3100-1에 의한 WP-CP, SCT-CP의 45일 생분해도 시험결과에서, 최종 생분해도는 WP-CP는 91.5%이고 SCT-CP는 92%으로 나타났다.

WP-CP와 SCT-CP는 시험 45일 이내에 70% 이상 분해되었고, 동일한 시료의 서로 다른 용기 사이의 분



**Figure 4.** The time profiles of mineralization of WP-CP and SCT-CP in a simulated composting test.

해도 차이가 20% 이하이므로 접촉 퇴비의 적정성과 장치의 신뢰도가 높아 본 생분해도 실험은 믿을 만한 결과임을 알 수 있었다(Figure 4).

시험 30일 전까지 SCT-CP의 생분해도가 WP-CP의 생분해도 보다 높아 SCT-CP의 생분해 속도가 약 1.2 배 더 빠른 것을 알 수 있는데, 이는 SCT-CP 입자의 형태가 불규칙한 형태로 선형의 WP-CP에 비해 퇴비 및 미생물에 닿는 표면적이 넓기 때문으로 사료된다. 게다가 입자의 크기가 작을수록 표면적이 크므로 분해가 유리할 것으로 사료되나 시료의 분자 구조 및 화학적 성질에 따라 더 큰 영향이 나타난다. 따라서 SCT-CP(5 $\mu$ m)가 WP-CP(400nm) 보다 평균 입도가 크지만 분해성이 더 높다고 생각된다.

#### 4. 결 론

본 연구에서는 SCT-CP의 매립에 의한 생분해성을 분석하기 위해, 먼저 SCT를 알칼리, 산처리, 표백처리의 정제과정을 거친 후 분쇄하여 SCT-CP를 제조하였다. SCT-CP는 당단백질을 포함한 동물성 셀룰로오스

의 일종으로 XRD 분석에 의하면 식물성 셀룰로오스인 WP-CP와 유사한 물리화학 및 결정구조를 갖는다. SCT-CP는 45일간 매립 한 후 생분해도가 92%로 대부분 분해되었는데, 이러한 생분해도 결과는 정제된 SCT가 퇴비화에 그대로 사용이 가능함을 나타낸다.

SCT-CP는 파이버, 필름 등의 형태로 가공하여 다양한 분야에 응용이 가능한데, 특히 높은 생분해도로 인해 산업 분야에서 에코 제품으로 응용될 가능성이 높을 것으로 사료된다.

#### 감사의 글

본 연구는 농림수산식품기술기획평가원(IPET)의 지원(과제제목: 미더덕껍질을 이용한 고부가가치 의료용 기능성소재 개발 및 산업화)을 받아 수행되었습니다.

#### References

1. D. R. Houghton and R. H. Millar, Spread of *Styela mammiculata* Carlisle, *Nature*, **185**, 862(1960).
2. E. S. Jung, J. Y. Kim, E. J. Park, H. R. Park, and S. C. Lee, Cytotoxic Effect of Extracts from *Styela clava* against Human Cancer Cell Lines, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **35**(7), 306(2006).
3. K. A. Hillock and H. J. Costello, Tolerance of the Invasive Tunicate *Styela clava* to Air Exposure, *Biofouling*, **29**(10), 1181(2013).
4. M. J. Wonham and J. T. Carlton, Trends in Marine Biological Invasions at Local and Regional Scales: the Northeast Pacific Ocean as a Model System, *Biol. Invasions.*, **7**, 369(2005).
5. M. H. Davis and M. E. Davis, *Styela clava* (Tunicata: Ascidiacea) - a New Addition to the Fauna of the Portuguese Coast, *J. Mar. Biol. Assoc. UK*, **85**(2), 403(2005).
6. B. Y. Seo, E. S. Jung, J. Y. Kim, H. R. Park, S. C. Lee, and E. J. Park, Effect of Aceton Extract from *Styela clava* on Oxidative DNA Damage and Anticancer Activity, *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.*, **49**(3), 227(2006).
7. Y. J. Jung, Properties of Regenerated Cellulose Films Prepared from the Tunicate *Styela clava*, *J. Kor. Fish. Soc.*, **41**(4), 237(2008).
8. S. H. Ahn, S. H. Jung, S. J. Kang, T. S. Jeong, and B. D. Choi, Extraction of Glycosaminoglycans from *Styela clava* Tunic, *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **18**(3), 180(2003).

9. S. Shiqeta, O. Suzuki, Y. Aki, S. Kawamoto, and K. Ono, Purification and Characterization of Sea Squirt Alpha-N-acetylgalactosaminidase, *J. Biosci. Bioeng.*, **89**(1), 84(2000).
10. A. Bodin, L. Gustafsson, and P. Gatenholm, Surface-engineered Bacterial Cellulose as Template for Crystallization of Calcium Phosphate, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, **17**(4), 435(2006).
11. S. M. Kim, J. H. Lee, J. A. Jo, S. C. Lee, and S. K. Lee, Preparation and Properties of Regenerated Cellulosic Biomaterial made from *Styela clava* tunics, *J. Kor. Oral Maxillofac. Surg.*, **31**, 440(2005).
12. Y. J. Jung, B. J. An, H. S. Kim, H. W. Choi, E. P. Lee, J. H. Lee, H. D. Kim, S. M. Park, and S. D. Kim, Preparation and Properties of Regenerated Composite Fibers made from *Styela clava* tunics/PVA Blending(2), *Textile Coloration and Finishing*, **20**(3), 31(2008).
13. S. H. Song, J. E. Kim, Y. J. Lee, M. H. Kwak, G. Y. Sung, S. H. Kwon, H. J. Son, H. S. Lee, Y. J. Jung, and D. Y. Hwang, Cellulose Film Regenerated from *Styela clava* Tunics have Biodegradability, Toxicity and Biocompatibility in the Skin of SD Rats, *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, **25**(6), 1519(2014).
14. S. C. Fadi and J. R. Arthur, Review of Current and Future Softwood Kraft Lignin Process Chemistry, *Ind. Crops Prod.*, **20**(2), 131(2004).
15. K. C. Ellis and J. O. Warwicher, A Study of the Crystal Structure of Cellulose I, *J. Polym. Sci.*, **56**(164), 339(1962).
16. F. J. Kolpak and J. Blackwell, Determination of the Structure of Cellulose II, *Macromolecules*, **9**(2), 273(1976).
17. M. Wada, H. Chanzy, Y. Nishiyama, and P. Langan, Cellulose III Crystal Structure and Hydrogen Bonding by Synchrotron X-ray and Neutron Fiber Diffraction, *Macromolecules*, **37**(23), 8548(2004).
18. L. He, Z. Guoying, and Z. Huaiyun, Research and Utilization Status of Natural Bamboo Fiber, *Adv. Mat. Res.*, **159**, 216(2010).
19. Y. Kataoka and T. Kondo, Quantitative Analysis for the Cellulose I Alpha Crystalline Phase in Developing Wood Cell Walls, *Int. J. Biol. Macromol.*, **24**(1), 37(1999).
20. L. Segal, J. J. Creely, A. E. Martin, and C. M. Conrad, An Empirical Method for Estimating the Degree of Crystallinity of Native Cellulose using the X-ray Diffractometer, *Text. Res. J.*, **29**(10), 786(1959).
21. L. Szcxesniak, A. Rachochi, and J. Tritt-Goe, Glass Transition Temperature and Thermal Decomposition of Cellulose Powder, *Cellulose*, **15**, 445(2008).
22. A. J. Stamm, Thermal Degradation of Wood and Cellulose, *Ind. Eng. Chem.*, **48**(3), 413(1956).
23. Y. H. Lee, E. J. Lee, G. S. Chang, D. J. Lee, Y. J. Jung, and H. D. Kim, Comparison of Oil Sorption Capacity and Biodegradability of PP, PP/kapok(10/90wt%) Blend and Commercial(T2COM) Oil Sorbent Pads, *Textile Coloration and Finishing*, **26**(3), 151(2014).