

生物펄프화 技術의 最近 進歩*2

趙 炳 默 *3

Recent Advances in Bio-Ligninolytic Pulping Technics*2

Byoung-Muk Jo *3

1. 緒 論

化學藥品나 에너지를 使用하지 않고 木材로부터 良質의 펄프를 얻으려는 것은 蔡倫의 製紙術 發明以來 人類가 부단히 追求해온 꿈의 하나이다.

이처럼 不可能한 것으로 生覺했던 것이 Eriksson 을 首시로 한 多方面의 集中的 研究로 最近 그 實現의 序幕을 열게 되었다. biological pulping, bio-fibrillation 혹은 bioconversion 등으로 言及되는 "生物펄프화 技術"이 바로 그것으로서 이는 自然系의 微生物(microbes)이나 이들이 生産하는 酵素(enzymes)의 木材分解 能力을 利用하여 工業적으로 펄프를 製造하려는 試圖이다.

複合有機 高分子物質인 木材는 비록 그 速度는 느리지만 各種 微生物의 作用으로 徐徐히 腐朽 分解되어 biospheric carbon-oxygen cycle 을 經과하게 되는데 이러한 自然系의 分解過程中 셀룰로오스와 헤미셀룰로오스의 損失은 最大限 抑制하고 리그닌 分解만을 選擇적으로 促進시켜 所期의 成果를 거두려는 것이 그 原理이다.

現段階에서는 아직 解決해야 할 難題가 많은데 事實이나 이를 克服하고 工業化에 成功한다면 이 生物펄프화 技術은 省資源, 省에너지 및 無公害에의 巨步를 내딛게 될 것이다.

2. 리그닌의 生分解와 그 機構

(1) 微生物分解

腐朽菌에 依한 木材의 生分解(biodegradation)는 通常 white-rot fungi가 리그닌을 主로 分解하는 白色腐朽와 brown-rot fungi가 셀룰로오스와 헤미셀룰로오스를 主로 分解하는 褐色腐朽로 大別되면서 極히 完滿하게 進行된다.

이들 腐朽菌의 侵入은 local attack의 性格을 띠긴하나 매우 徹底해서 殘骸를 남기지 않는 exhaustive degradation의 패턴을 보이는게 그 特徵으로서 biological pulping의 主利用 對象이 되는 것은 역시 白色腐朽菌이다.

그러나 最近 Haider 等에 依하면 이들 white-rot fungi 外에도 bacteria, mould 및 fungi imperfecti 等도 部分的으로 리그닌을 分解시킴이 확인되고 있다.

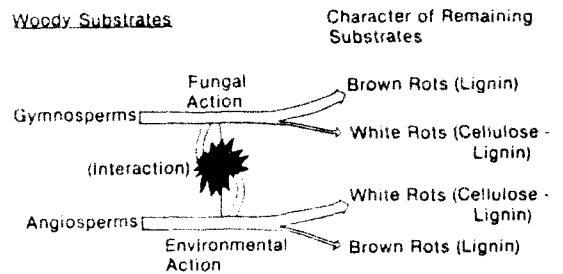


Fig. 1 Basic decay systems.

腐朽菌을 펄프화에 응용하는 경우, 이들이 炭素源으로 리그닌만을 選擇적으로 利用하고 炭水化合物은 고스란히 남겨두는 것이 가장 바람직하나 實際로는 Kirk의 報告에서와 같이 리그닌의 分解와 同時에 炭水化合物의 損失 역시 相當하기 때문에 炭水化合物의 分解는 最少로 制限되고 代身 리그닌의 分解能力만 이 極大화된 菌株의 出現이 問題解決의 關鍵이 되고 있다.

* 1 Received August 15, 1982

* 2 本報는 木材科學國際學術심포지움(1982, 春川, 韓國)에서 發表.

* 3 江原大學校 林科大學 College of Forestry, Kangweon Nati. Univ. Chuncheon, Korea.

Table 1. Representative species of white-rot fungi

Fungus	Reference
1. <i>Phanerochaete chrysosporium</i> (= <i>Sporotrichum pulverulentum</i>)	Kirk <i>et al.</i> (1975), Lundquist <i>et al.</i> (1977)
2. <i>Phanerochaete velutina</i>	Ander and Eriksson (1977)
3. <i>Polyporus abietinus</i> (= <i>Hirschioporus abietinus</i>)	Day <i>et al.</i> (1949)
4. <i>Polyporus versicolor</i> (= <i>Coriolus versicolor</i>)	Cowling (1961), Kawase (1962), Pelczar <i>et al.</i> (1950); Kirk and Highley (1973), Haider and Trojanowski (1975)
5. <i>Polyporus dichrous</i> (= <i>Gloeoporus dichrous</i>)	Ander and Eriksson (1977), Selin <i>et al.</i> (1975)
6. <i>Polyporus adustus</i> (= <i>Bjerkandera adusta</i>)	Sundman and Nase (1971)
7. <i>Polyporus brumalis</i>	Sundman and Nase (1971)
8. <i>Polyporus picipes</i> (= <i>P. badius</i>)	Sundman and Nase (1971),
9. <i>Polyporus resinus</i> (= <i>Ishnoderma resinus</i> and <i>P. benzoinus</i>)	Ander and Eriksson (1977)
10. <i>Polyporus berkeleyi</i>	Kirk and Moore (1971), Kawase (1962)
11. <i>Polyporus giganteus</i> (= <i>Polypilus giganteus</i>)	Kirk and Moore (1972)
12. <i>Polyporus frondosus</i>	Kirk and Moore (1972)
13. <i>Poria subacida</i> (= <i>Perenniporia subacida</i>)	Day <i>et al.</i> (1949)
14. <i>Poria ambigua</i> (= <i>P. latemarginata</i>)	Ander and Eriksson (1977)
15. <i>Pleurotus ostreatus</i>	Hiroi and Eriksson (1976), Sundman and Nase (1971), Kirk and Moore (1972), Haider and Trojanowski (1975)
16. <i>Bjerkandera adusta</i>	Ander and Eriksson (1977)
17. <i>Pycnoporus cinnabarinus</i>	Ander and Eriksson (1977)
18. <i>Trametes zonata</i>	Ander and Eriksson (1977)
19. <i>Trametes hirsuta</i> (= <i>Corrolus hirsutus</i>)	Ander and Eriksson (1977)
20. <i>Trametes versicolor</i> (= <i>Coriolus versicolor</i>)	Ander and Eriksson (1977), Sundman and Nase (1971), Selin <i>et al.</i> (1975)
21. <i>Trametes pini</i> (= <i>Phellinus pini</i>)	Sundman and Nase (1971)
22. <i>Pholiota mutabilis</i>	Ander and Eriksson (1977)
23. <i>Pholiota spectabilis</i> (= <i>Gymnopilus spectabilis</i>)	Ander and Eriksson (1977)
24. <i>Pholiota squarrosa</i>	Sundman and Nase (1971)
25. <i>Cerrena unicolor</i>	Ander and Eriksson (1977)
26. <i>Phellinus isabellinus</i>	Ander and Eriksson (1977)
27. <i>Phlebia gigantea</i>	Ander Eriksson (1977)
28. <i>Phlebia radiata</i>	Ander and Eriksson (1977)
29. <i>Merulinus tremellosus</i>	Ander and Eriksson (1977)
30. <i>Lycoperdon pyriforme</i>	Ander and Eriksson (1977)
31. <i>Fomes applanatum</i> (= <i>Ganoderma applanatum</i>)	Kawase (1962)

32. <i>Fomes ulmarius</i> (= <i>Rigidoporus ulmarius</i>)	Ander and Eriksson (1977), Kirk and Moore (1972)
33. <i>Fomes annosus</i> (= <i>Heterobasidion annosum</i> or <i>Fomitopsis annosa</i>)	Sundman and Nase (1971), Ishikawa <i>et al.</i> (1963)
34. <i>Fomes fomentarius</i>	Sundman and Nase (1971)
35. <i>Fomes ignarius</i> (= <i>Phellinus igniarius</i>)	Sundman and Nase (1971)
36. <i>Fomes pini</i> (= <i>Phellinus pini</i>)	Ishikawa <i>et al.</i> (1963)
37. <i>Marasmius androsaceus</i>	Sundman and Nase (1971)
38. <i>Marasmius scorodonius</i>	Sundman and Nase (1971)
39. <i>Armillaria mellea</i> (= <i>Armillariella mellea</i>)	Sundman and Nase (1971)
40. <i>Hypholoma capnoides</i>	Sundman and Nase (1971)
41. <i>Polystictus abietinus</i> (= <i>Hirschioporus abietinus</i>)	Sundman and Nase (1971)
42. <i>Lenzites butulina</i>	Sundman and Nase (1971)
43. <i>Panus conchatus</i>	Sundman and Nase (1971)
44. <i>Stereum purpureum</i> (= <i>Chondrostereum purpureum</i>)	Sundman and Nase (1971)
45. <i>Xanthochorus obliquus</i>	Sundman and Nase (1971)
46. <i>Ganoderma applanatum</i> (= <i>Elfvigia applanatum</i>)	Kirk and Highley (1973), Kirk and Highley (1973)
47. <i>Peniophora</i> sp.	Kirk and Moore (1972)
48. <i>Cryptoderma yamanoi</i>	Thiverd and Lebreton (1969)
49. <i>Radulum casearium</i>	

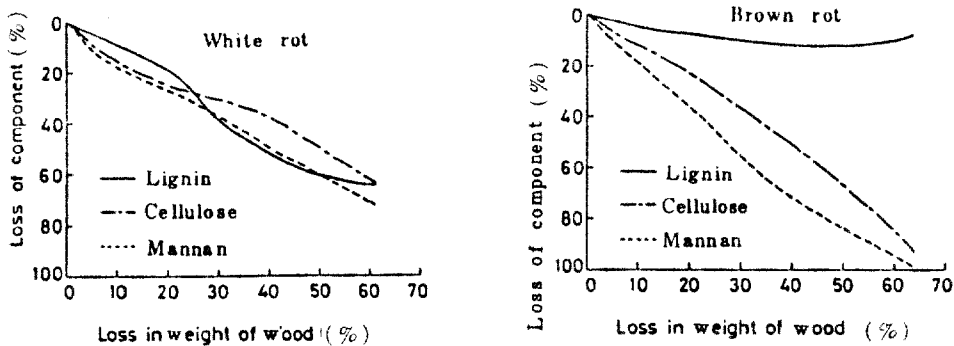


Fig. 2 Loss of wood components by fungal degradation.

따라서 이 점에 關心이 集中되어 優良 리그닌 分解 菌의 選拔과 變異菌株의 誘導 및 그 分解機構의 解明에 對한 研究가 活潑히 수행되고 있다.

Kirk 等은 aspen 을 供試材로 한 white-rot fungi 의 리그닌 分解量과 炭水化物의 消費量을 調査하여 選擇적으로 리그닌을 分解하는 7 種類를 選拔하였는데 그 中 *Lentinus edodes* 는 리그닌 分解量이 79%, 炭水化物 消費量이 12% 程度임을 밝혔다.

Eudy 는 150 種의 木材腐朽菌에 對한 리그닌의 分解能力을 檢索한 바, 大部分의 white-rot fungi 는 리그닌 分解量이 기타成分의 1/2 에 불과했으나 몇몇은 그 分解量이 근 2 倍에 達하는 것이 있음을 報告하고 있다.

또 스웨덴의 Henningsson 은 殺菌處理한 birch 材를 約 2 個月間 발틱海의 海水에 浸漬시켜 리그닌 分解能力이 매우 우수한 *Peniophora crenea* 를 分離하는데 成功하였다.

Table 2. Some changes in general properties of lignin in spruce wood during decay by white-rot fungi

Property	Method of analysis	Change	
		Increase	Decrease
Carboxyl content	C, UV, IR, NMR	+	
Hydroxyl content			
Total	C		+
Aliphatic	C, NMR		+
Aromatic	C, UV, NMR		+
Carbonyl content	UV, IR, NMR	+	
Hydrogen/C content	C		+
Oxygen/C content	C	+	
Methoxyl/C content	C		+
Total yield of methoxylated aromatic acids on oxidative degradation after methylation	C		+
Yield of principal acidolysis products	C		+

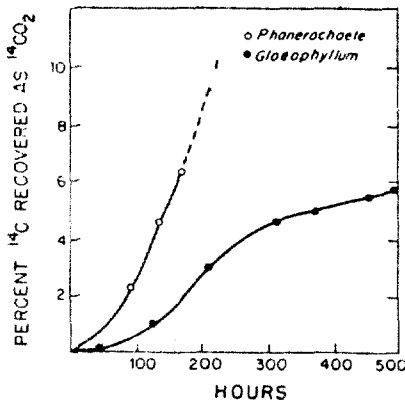


Fig. 3 Degradation of ¹⁴C-|LIGNIN|-spruce by *Gloeophyllum* and *Phanerochaete chrysosporium*.

한편 Crawford는 ¹⁴C-lignin을 사용하여 細菌의 리그닌 분해성을 증명하였으며 Scott는 리그닌 분해細菌의 選拔結果를, 그리고 Gawagami는 Ps-

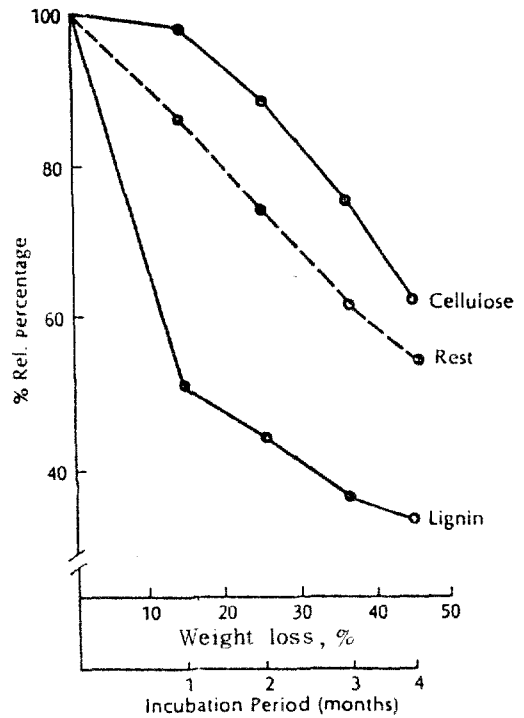


Fig. 4 Progressive change in the ratio cellulose:lignin in birchwood chips treated with the unidentified white-rot fungus P-B1. By addition of certain nitrogen compounds the attack has been directed against the lignin.

eudomonas 細菌을 利用하여 各種 리그닌 試料의 分解實驗을 行하고 있다.

이 밖에 Martin과 Haider는 ¹⁴C-DHP의 토양 미생물에 의한 生分解에서 *Nocardia* 糸狀菌의 리그닌 分解能力을 밝힌 바 있다. 또 不完全菌인 *Fusarium* 역시 Iwahara, Higuchi, Norris 등에 의해 그 分解能力이 알려지게 되었는데 *Fusarium*은 리그닌의 低分子部分을 잘 分解함이 함께 究明되었다.

이와는 별도로 變異株를 얻기 爲한 試圖도 꾸준히 이어지고 있는데 Eriksson은 *Sporitrichum pulverulentum*의 孢子에 15分間 紫外線을 照射하여 3×10^4 個中 1個꼴로 리그닌 分解能力이 極히 우수한 cellulase-less mutant의 變異株 cell-44를 얻은 바 있다.

또 美國의 Gold는 試藥을 使用하여 *Phanerochaete chrysosporium*의 變異株를 얻어냈다.

이러한 變異株의 誘導에는 X線이나 γ 線 外에도 nitrosoguanidine과 같은 化學的 誘起劑도 利用되고 있다.

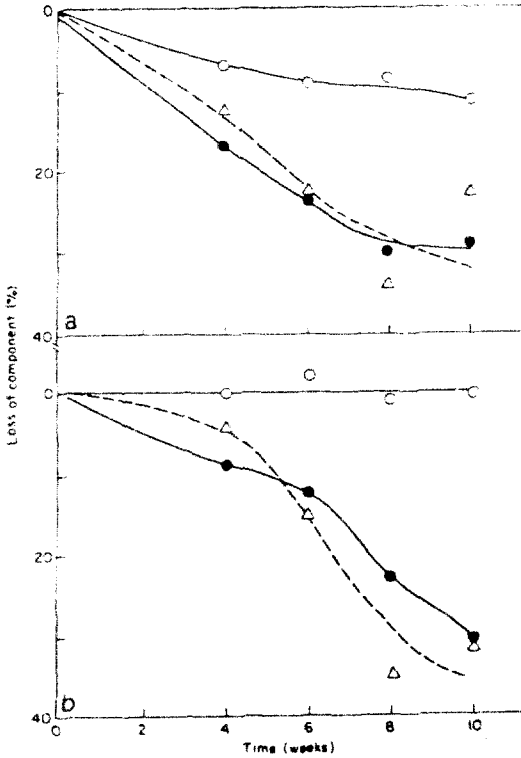


Fig. 5 Depletion of components from birch wood by (a) wild type and (b) a cellulase-less mutant of *Sporotrichum pulverulentum* (= *Phanerochaete chrysosporium*) ○, Glucan; △, xylan; ●, lignin.

12) 酵素分解

腐朽菌이 木材의 炭水化合物이나 리그닌을 分解시킬 때 木材成分에 直接 作用하는 것은 酵素이다.

결국 腐朽菌은 自己 體内に 本來부터 지니고 있는 酵素(構成酵素)와 分解途中에 생겨나는 酵素(誘導酵素 혹은 適應酵素)를 무기로 하여 리그닌이나 炭水化合物을 代謝에 利用한다.

리그닌 分解酵素로서 가장 重要的한 것은 laccase로 이 酵素는 phenol 類의 脫水素와 同時에 酸化分解도 觸媒한다. 即 laccase는 phenol의 水素를 酵素에 넘겨주고 quinone radical을 生成시킨다.

Ishihara는 MWL에 laccase를 作用시켜 그 分解生成物을 檢索해 본 結果, 리그닌은 laccase에 依해 脫 methyl化 되어 methanol과 quinone을 生成함을 밝혀냈다.

한편 Westermarck와 Eriksson은 *Sporotrichum pulverulentum*의 寒天培地에 cellobiose를 添加했을 때 菌系의 脫色現象이 나타남을 확인하고 이 脫

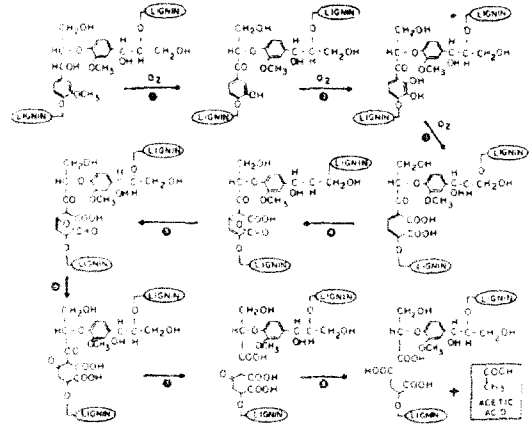


Fig. 6 A hypothetical catabolic sequence for the microbial degradation of lignin. (1) Demethylation of lignin's 3-Omethyl groups and oxidation of benzyl alcohols to ketones; (2) aromatic hydroxylation to form catechol structures; (3) aromatic ring fission by orthofission; (4) ring lactonization (5-8) reactions directly analogous to those of the β -ketoacid pathway ultimately yielding simple organic acids such as acetate. This erosion of the lignin molecule would occur at all lignin surfaces available to the microorganism involved. This scheme necessitates the involvement of extracellular or cell surface-bound enzymes.

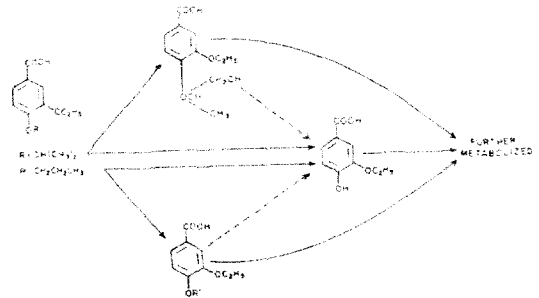


Fig. 8 Hydroxylation and dealkylation of propyl ethers of 3-ethoxy-4-hydroxybenzoic acid by the lignin-decomposing fungus *Polyporus dichrous*. Intermediate hydroxylated products presumably are metabolized via dealkylation to the parent acid.

色反應을 觸媒하는 cellobiose-dehydrogenase (cellobiose-quinone oxidoreductase)를 單離하는데 成功하였다. 이 酵素는 laccase에 依해 生成된 quinone radical에다 cellobiose의 水素를 빼앗아 더해 주므로서 이를 phenol로 還元시킨다.

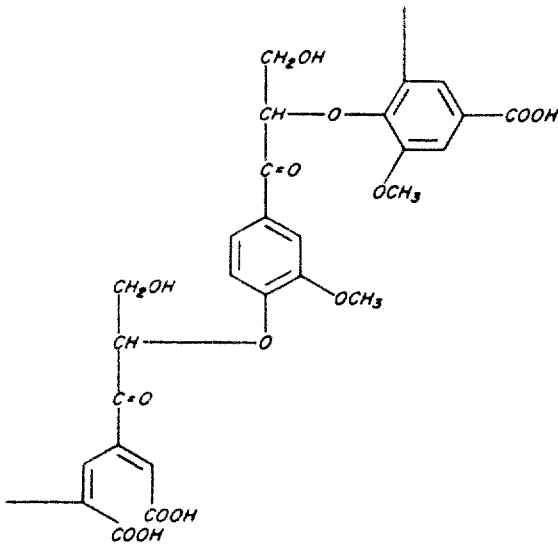


Fig. 7 Hypothetical structure of a portion of lignin after attack by white-rot fungi. Known consequences of attack include decreases in H; OCH₃; aromaticity; phenolic, total and aliphatic hydroxyl; yield of aromatic products on chemical degradations; and increases in COOH; O; C=O; α, β-unsaturated COOH; and aryl COOH.

결국 이 효소는 laccase 에 의해 생성된 quinone 을還元시켜 phenol 을 생성시키고 이어 oxygenase 에 의한芳香核의開裂反應을 받기 쉽도록誘導하는 역할을 한다.

以上の 효소作用을 종합하면 결국 炭水化合物과 리그닌의 復合物인 木材 腐朽의 경우, cellulose 때문에 cellulase 가 誘導되면 이 cellulose 가 cellobiose 로 分解되어 cellobiose dehydrogenase 의 共同基質이 된다.

한편 laccase 에 의해 分解된 리그닌의 quinone 構造, 即 phenoxy radical 은 cellobiose dehydrogenase 의 水素受容體로 作用하여 이를 phenol 型으로還元시킨다.

이렇게 생성된 phenol 型은 以後 oxygenase 에 의해 低分子物質로 分解된다. 同時に cellobiose 는 cellobiono-δ-lactone 을 경유하여 cellobionic acid 로 酸化된다.

oxygenase 는 空氣中的 酸素를 添加시켜 리그닌의芳香核과 側鎖의 水酸化, 芳香核 methoxyl 基의 脫methyl 과 芳香核의 開裂 등을 야기시킨다.

이때 水酸化反應과 脫methyl 反應은 주로 NADH 혹은 NADPH 등의 水素供與補助 효소에 依한다.

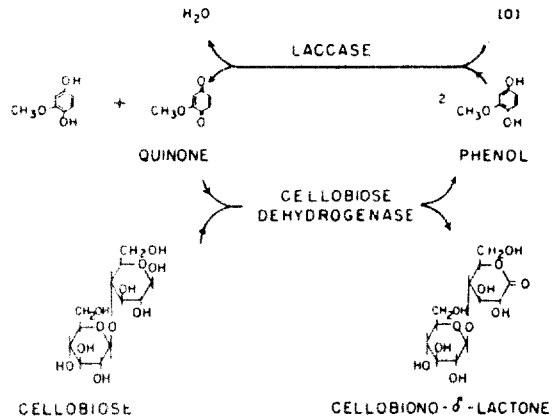


Fig. 9 Reactions catalyzed by fungal cellobiose: quinone oxidoreductase and laccase (Ander and Eriksson, 1978).

Fukuzumi 等이 行한 NADH 와 효소 存在下에서의 側鎖 및 methoxyl 基 分解 實驗이나 Gold 等이 *P. chrysosporium* 의 효소에 依한 NADPH 와 효소 存在下에서 vanillic acid 가 脫炭酸化된 後, methoxyhydroquinone 을 生成함을 확인한 것은 모두 側鎖分解에 關한 oxygenase 의 作用에 對한 例이다. 또 芳香核 開環 oxygenase 에 關해서는 Cains 가 各種 糸狀菌에 對해 調查報告한 바 있다.

이 밖에 리그닌의 化學構造面에서 볼 때 적어도 그 低分子化에는 ether 結合을 解裂시킬 수 있는 효소 即, etherase 가 必要할 것으로 豫想되는데 Minami 等은 實際 脫methyl 과 ether 結合을 붕괴시키는 효소를 報告하고 있다.

Shimada 는 ¹⁴C 및 tritium 으로 二重 라벨시킨 coniferyl alcohol 로 DHP 를 合成한 後, 여기에 laccase 를 作用시켜 본 結果, 側鎖 α 및 β 位의 proton 은 共히 約 25% 가량 消失된 反面 γ 位의 proton 은 거의 離脫되지 않음을 밝혀냈다.

따라서 laccase 는 우선 非縮合型 構造의 側鎖 α 位 炭素를 carbonyl 로 酸化시키고 이 carbonyl 이 다시 enol 化 되면 carbanion 의 生成에 依해 β 位의 proton 이 除去되면서 不齊構造가 消失된다고 주장하였다.

그는 laccase 가 側鎖構造의 proton 立體 特異性을 파괴시키므로서 以後 여타의 효소作用을 쉽게 誘導하는 역할을 한다는 極히 注目할만한 說을 發表하였다. 결국 리그닌의 生分解는 各種 효소의 組合, 그것도 分解의 經과에 따라 그 組合이 變更되면서 활발하게 進行되는 것으로 보아진다. 따라서 'biological pulping' 에 이를 應用하는 경우에는 앞에서 言及한

바와 같이 cellulase synthesis를 가능한 한 抑制하기 위해 glucose, xylose 등의 單糖類를 共存시켜 catabolic repression 效果를 기하도록 노력하여야 할 것이다.

一般的으로 이러한 catabolic repression 效果는 cellulase 뿐만이 아니라 mannase 나 pectinase 와 같은 hemicellulase의 경우에도 마찬가지인 것으로 알려져 있다.

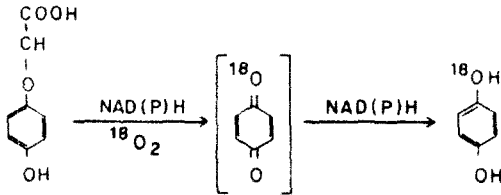


Fig. 10 Hydroxylation of 4-hydroxyphenoxyacetate by a *Bacillus* (R.L. Crawford, 1978).

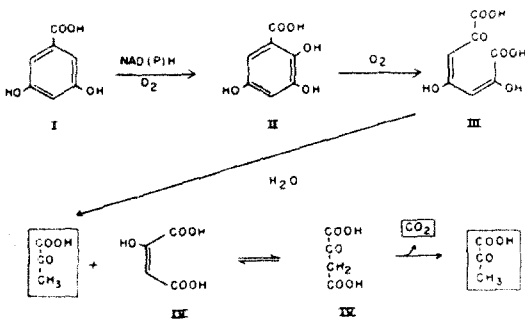


Fig. 11 Catabolism of 3,5-dihydroxybenzoate by *Bacillus brevis* (Crawford and Olson, 1978).

3. 生物醗酵化 技術

(1) Chip - Biomechanical pulping

木材칩에 微生物을 前處理하여 細胞間層의 리그닌을 部分的으로 分解 除去시키므로써 解纖動力의 消費를 줄이고 unbroken fiber를 얻어 펄프의 品質向上을 기하려는 아이디어로 現在 美國, 스웨덴, 日本에서 활발히 研究되고 있다.

Eriksson과 Vallender는 *S. pulverulentum*의 變異株 Cell-44를 接種하여 20ℓ 용량의 horizontal type cylinder fermentor 4基로 칩을 12日間 培養 前處理한 後, TMP를 製造해 본 結果 電力消費量이 大幅 節約됨을 밝혔다.

即, 培養處理 birch 칩(重量減少 2%)을 127°C에

서 3分間 處理한 後 12"의 리화이나로 解纖하여 그 消費動力을 比較하였더니 未處理칩이 1,300kwh/t인데 比해 培養칩은 850kwh/t으로서 約30%의 切減效果가 있었다.

뿐만 아니라 이에 얻어진 TMP의 強度에는 別差 異가 없었다.

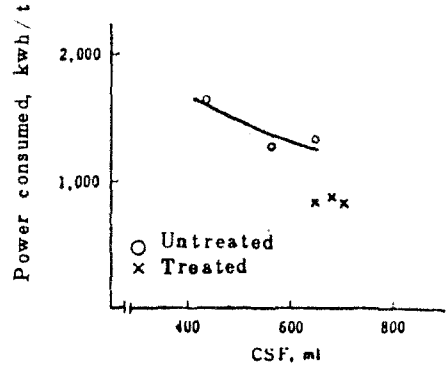


Fig. 12 Power consumption for TMP from birch chips treated by Cell-44 for 12 days.

또 1個月間 培養處理한 소나무칩(重量減少 2%)을 RGP化하여 裂斷長과 比引裂度를 檢討해 본 結果, 處理 RGP는 叩解가 용이할 뿐 아니라 sheet의 強度도 높아서 同一 열단장의 경우 比引裂度가 20~30%程度 높음을 밝혔다.

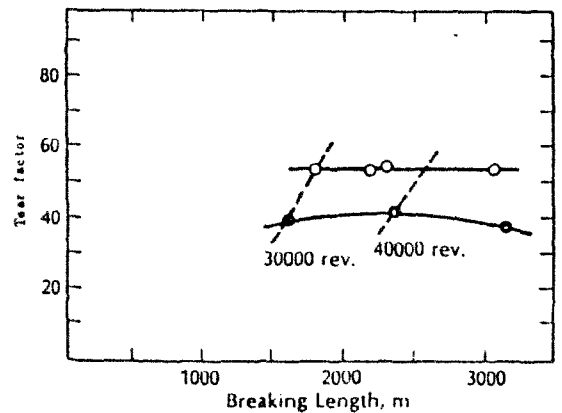


Fig. 13 Effect on tear factor and breaking length of mechanical pulp from pine chips after pretreatment with the cellulase-less mutant Cell-44. ○ pretreated, ● untreated. The broken lines show values for the same number of revolutions used in the milling.

이외에 培養處理에 의한 重量減少의 영향을 검토한 결과 소나무칩의 경우 0.7, 1.5 및 2.5%로 重量損失이 커감에 따라 電力消費는 줄어들었다.

CSF 435 ml에서 比較할 때 未處理 칩의 電力消費량이 1,500 kWh/t 인데 대해 重量減少 2.5%에서는 1,000 kWh/t 程度로 約 30%의 에너지切減 效果가 있었다.

그러나 Samuelsson 이 *Pinus silvestris*에다 *Phlebia radiata* Fr. L 12-41 과 Cell-26 을 接種하여 14日間 26 °C로 배양한 것을 127 °C와 170 °C에서 解纖한 바에 의하면 解纖動力의 切減效果는 뚜렷하나 sheet의 強度와 白色度는 未處理보다 낮음을 밝히고 있어 今後 이에 對한 研究 검토가 要求되고 있다.

한편 Yang 등은 培養에 glucose를 添加하므로써

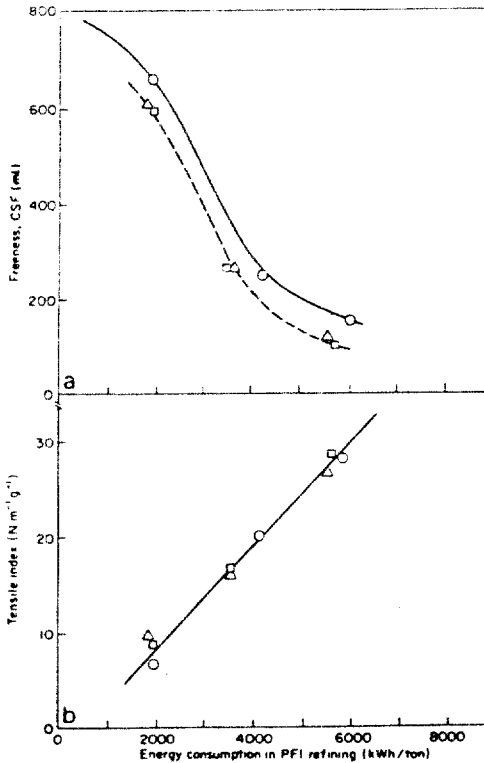


Fig. 14 Effect of pretreatment with wild type and a cellulase-less mutant of the ligninolytic fungus *Phlebia radiata* on (a) Canadian Standard Freeness (CSF; a measure of fibrillation) and (b) tensile index of paper, as functions of refining energy consumption for pine chips. o, Control; Δ fungus-treated, wild type; □, fungus-treated, mutant.

炭水化合物의 損失없이 리그닌을 29%까지 除去할 수 있음을 밝혔다.

Table 3. Effect of glucose on degradation of alder TMP by *Phanerochaete chrysosporium* in two weeks

Glucose (%, dry pulp basis)	Loss of component (% of original amount)		
	Lignin	Carbo- hydrates	Total weight
0	31	23	24
7	34	24	25
35	29	0	6
70	25	0	0

以上の 結果를 토대로 하여 Ander와 Eriksson은 上部로 칩과 微生物을 투입하고 一定期間 배양한後, 下部로 排出시키는 大型處理槽의 設置可能性과 그 工程을 提案하였다.

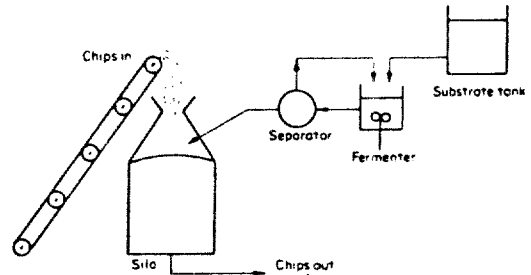


Fig. 15 Silo arrangement for treating wood chips with delignifying fungi, suggested by Ander and Eriksson.

(2) Coarse TMP - Biomechanical pulping

post refining 前의 coarse TMP를 部分的으로 脱리그닌시켜 良質의 펄프를 얻으려는 biomechanical pulping의 한 變法이 최근 활발히 검토되고 있다.

이는 coarse TMP가 chip보다 不必要한 微生物의 번식이 적고 菌自體도 쉽게 脱리그닌을 行할 수 있을 뿐 아니라 작은 에너지로 良質의 펄프를 製造할 수 있기 때문이다.

Samuelson과 Mjöberg 등의 報告에 依하면 white-rot fungi를 處理하여 重量減少 2%의 TMP를 實驗한 바 post refining에 相當한 에너지 消費의 節約이 있었으나 變異株處理의 것이 野生菌處理보다 強度가 낮은 結果가 있었다.

따라서 이러한 fungal treatment에서도 역시 ca-

bohydrate degradation의 방지가 重要한 사항으로 간주되었다. 이에 따라 배양에 glucose를 添加하므로서 이를 방지한 Chang과 Kirk의 報告가 있다.

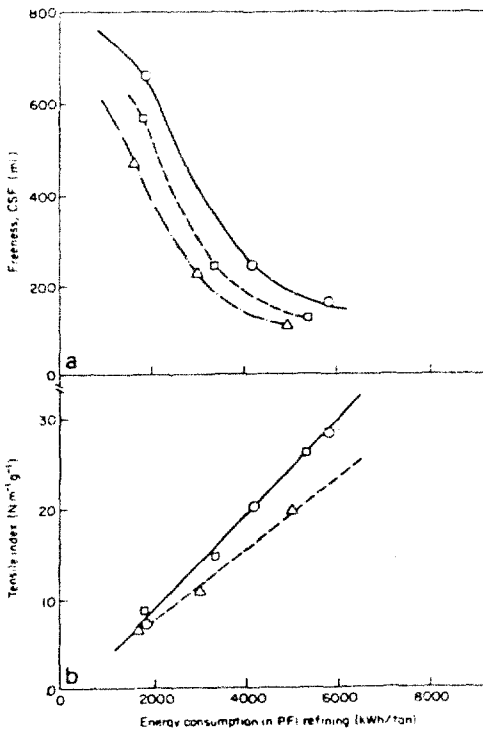


Fig. 16 Effect of pretreatment with wild type and a cellulase-less mutant of *Phlebia radiata* on (a) Canadian Standard Freeness (CSF; a measure of fibre fibrillation), and (b) tensile index of paper, as functions of refining energy consumption for pine thermomechanical pulp. ○, Control; △, fungus-treated, wild type; □, fungus-treated, mutant.

Abson 등은 red alder의 coarse TMP를 *P. chrysosporium*으로 部分 脱리그닌화 한 후 post refining의 에너지 消費와 alkali swelling 處理 有無에 따른 同 펄프의 強度特性을 檢討한 結果 에너지 消費는 다 減少되었으며 또 alkali swelling 有無에 相關없이 強度가 양쪽 다에서 크게 增強됨을 밝혔다.

이들 TMP의 fungal degradation 速度는 칩의 경우보다 훨씬 빨라서 대략 하루에 3% 이상의 脱리그닌率 수준임도 밝혀졌다.

(3) Biochemical pulping

biochemical pulping에 關한 研究는 아직껏 그리

活潑한 단계에는 이르지 못하고 있다.

東京大學에서 리그닌 分解能力이 우수한 4種의 white-rot fungi를 참나무 칩에 接種하여 1個月間 배양處理한 후 NSSCP 및 KP法으로 蒸解하여 얻은 펄프의 品質은 表 4와 같았다.

참나무 칩은 腐朽의 進行에 依해 重量減少를 나타

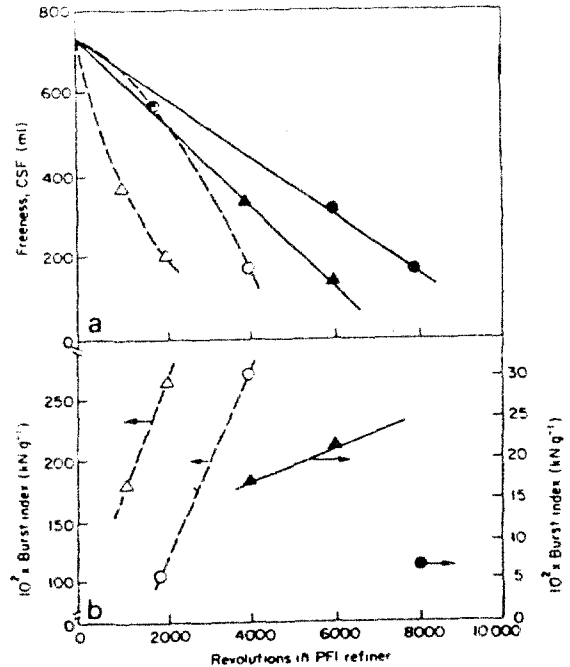


Fig. 17 Effect of pretreatment with the ligninolytic fungus *Phanerochaete chrysosporium* on (a) Canadian Standard Freeness (CSF; a measure of fibre fibrillation) and (b) burst index, as functions of revolutions in PFI-refining

Normal beating: ●, control; ▲, fungus-treated.
Alkali swollen: ○, control; △, fungus-treated.

였으나 1個月이라는 長期間 배양에도 불구하고 6~13%의 減少幅에 그쳐 이는 그다지 심각한 것은 아닌 것으로 보아졌다. 왜냐하면 칩을 無菌狀態로 水浸 處理해도 5~6%의 重量減少가 수반되기 때문에 菌만에 依한 重量減少는 0~7%에 불과한 실정이다.

한편 펄프收率은 無處理에 비해 4~10%程度 낮은데 反해 리그닌의 分解效果는 매우 큼을 알 수 있었다.

얻어진 펄프의 品質은 無處理의 것과 거의 差異가 없었다. 오히려 菌培養處理로 白色度の 向上이 있었을 뿐 아니라 NSSCP의 耐折度가 2배 가까이 增強

Table 4. Cooking results of fungal treated oak chip

Kind	Weight loss (%)	KP		NSSCP
		Yield (%)	Kappa No.	Yield (%)
Untreated	0	52.6	43.0	79.2
Treated	6.2 ~ 13.1	43.0 ~ 47.8	17.9 ~ 22.7	65.5 ~ 70.5

되는 現象을 보였다. 以上の 蒸解結果를 종합해 보면 칩의 리그닌은 배양처리중에 脫리그닌이 용이하도록 變質됨을 확인할 수 있었다.

따라서 今後는 칩의 菌배양 期間을 最大限 短縮시키고 溫和한 蒸解條件으로 펄프化 할 必要가 있는 것으로 판단되고 있다.

Eriksson은 7日間까지 그 培養期間의 단축이 可能함을 밝히고 이때의 칩 重量減少는 2~3%에 不過하며 收率低下도 1~2%로서 무시해도 좋을 程度임을 報告하였다.

(4) Enzyme pulping

酵素를 利用한 펄프製造는 아직도 환상에 불과한 실정이나 biological pulping 技術이 蓄積되면 언젠가는 實現可能할 것으로 여겨지고 있다. 現在 각광을 받고 있는 anthraquinone 등의 quinone 化合物에 依한 最近의 新蒸解 機構는 flavone 酵素의 作用과 類似하며 또 酸素漂白이나 酸素蒸解法은 oxygenase 酵素反應과 거의 비슷하다. 다만, 이들 酵素는 不安定하기 때문에 이들 酵素의 安定固定化가 확립된다면 그 實用化의 길이 트이게 될 것으로 보아진다.

이에 따라 食品工業에서 주로 利用되고 있는 酵素의 機能을 펄프化에 도입하여 칩이나 非木材纖維의 脫리그닌 處理에 活用하거나 이들 酵素를 改良하여 木材組織內에 쉽게 침투되도록 低分子化 하는 研究도 進行되고 있다.

따라서 급속히 발달되고 있는 酵素化學, 生化學, 化學工業 및 遺傳子工業의 첨단 研究로 그 實用化는 그다지 먼 것이 아님을 실감할 수 있다.

(5) Biobleaching 및 Bio wastewater treatment

biobleaching 에 關한 研究가 Lundquist, Kirk, Connors 등에 依해 착실히 進行되고 있다.

이들은 ¹⁴C-labelled KP 리그닌이 *P. chrysosporium*에 依해 original 리그닌보다 더 빨리 代謝됨

을 확인했는데 以後 Yang 등의 추가 實驗으로 KP 內의 residual lignin 이 white-rot fungi 에 依해 더 빨리 除去됨을 알게 되어 biobleaching 의 계기를 마련하였다.

Fig. 18 에서와 같이 KP의 脫리그닌 패턴은 3단계의 형태를 取함이 밝혀졌다. 即 初期의 활발한 菌發生 以前에는 거의 脫리그닌이 일어나지 않다가 中반에 急速한 脫리그닌 양상을 보인다. 따라서 biobleaching 에서는 初期의 rapid phase 를 잘 活用하는 것이 요령으로 보아진다.

그러나 biobleaching 의 技術的 問題點으로는 ① 脫리그닌에 長時間이 所要되고 ② 대규모의 배양환경의 조성과 그 조절의 필요성 ③ 炭水化合物의 붕괴抑制 ④ 極히 完만한 脫리그닌率 등을 들 수 있다.

펄프廢液이나 漂白廢液의 着色은 주로 리그닌分解物에 기인하는데 이들은 既存의 bacteria based

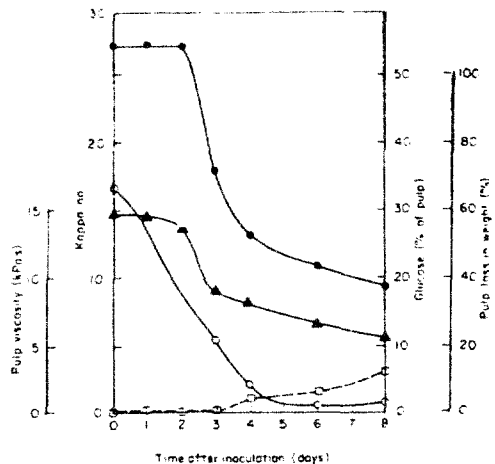


Fig. 18. Changes in kappa number (Ξ lignin x 6), viscosity and weight of kraft pulp during incubation with *Phanerochaete chrysosporium*. Decrease in kappa number is proportional to bleaching. Glucose was added to retard cellulose degradation. ●, Kappa number; ▲, viscosity; □, weight loss; ○, glucose.

biological effluents treatment process 로는 잘 除去되지 않는다. 이를 爲해 ultrafiltration, carbon adsorption, lime precipitation 等の 處理方式을 併用하고 있다.

Kirk 等이 *P. chrysosporium* 이 KP 漂白廢液을 急速히 分解시킴을 알아낸 後, Fukuzumi, Chang, Eaton 이 여러 種의 white-rot fungi 가 相當한 程度로 廢液을 脫色시킨다는 事實을 報告하였다.

Fig 19 는 第1次 알칼리抽出단계 漂白廢液의 脫色效果를 나타낸 것이다.

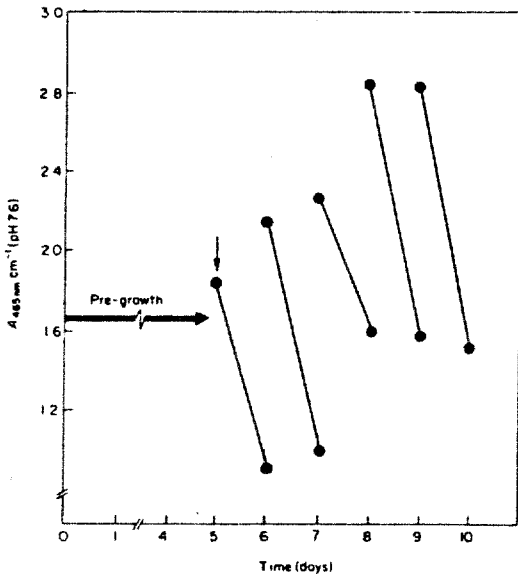


Fig. 19 Decolorization of kraft bleach plant effluent with ligninolytic mycelium of *Phanerochaete chrysosporium*.

최근의 研究結果에 依하면 단 하루의 處理로도 80%의 脫色效果를 거두었으며 thin-film 型 反應槽에서 높은 脫色率을 나타냈다.

Sundman 은 이들의 脫色過程을 추적하여 發色高分子物質의 分解를 확인하고 同時에 毒性和 BOD 및 COD의 變化도 檢索한 바 있다.

4. 結 論

biological pulping 은 現在 研究의 初期 단계에 있기 때문에 앞에서 言及한 바와 같이 리그닌의 生分解에 따른 炭水化合物의 분해 수반이나 칩의 均一한 大量培養 技術의 미숙 等 問題點이 山積해 있긴 하나 優良菌株의 選拔, 改良과 培養技術의 開發, 그리고

적절한 解纖方法의 講究가 꾸준히 이어지고 있어 가장 脚光받는 펄프化法으로 臺頭될 可能性이 매우 높다. 더우기 오늘날의 눈부신 生化學이나 遺傳子工學은 이미 菌이나 酵素의 生成과 그 作用機構의 解明에서 進一步하여 遺傳子組合에 依한 微生物의 能力向上 技術단계에 돌입해 있기 때문에 生物펄프化에 가장 適合한 微生物을 찾아내는 일도 그리 먼 장래는 아닐 것이다.

資源不足과 高價에너지의 克服 및 公害規制를 克服할 수 있는 이 새로운 펄프化 技術의 早速한 確立을 기대해 본다.

Reference

1. W.M. Kurowski and J.A. Dunleavy, *J. Appl. Bacteriol.* **41**, 119-128 (1976).
2. A.W. Wilson, *Pulp Pap. Int.* **13**, 50-52 (1971).
3. K. Forss, K. Jokinen and M. Savolainen, *Tappi For. Biol. Wood Chem. Conf. Madison, Wisconsin*, 101-105 (1977).
4. G. Peterson, J. Klein and D. Martinesen, *Tappi* **61**, 46-50 (1978).
5. J.G. Zeikus, *Enzyme microb. Technol.* **1**, 243-252 (1979).
6. M. Ek and K.-E. Eriksson, *Appl. Polym. Symp.* **28**, 197-203 (1975).
7. K. Yoshihara and Y. Kobayashi, *Biotechnol. Lett.* **3**, 113-118 (1981).
8. D. Eaton, H.-m Chang and T.K. Kirk, *Tappi* **63**, 103-177 (1980).
9. Y. Kita, K. Koide and K. Horikoshi, *ACS/JCS Chemical Congress, Honolulu, Hawaii (Abstr.)*, (1979).
10. F. Zadraxil, *Eur. J. Appl. Microbiol.* **9**, 243-248 (1980).
11. T.K. Kirk and W.E. Moore, *Wood Fiber* **4**, 72-79 (1972).
12. D.L. Crawford and R.L. Crawford, *Enzyme Microb. Technol.* **2**, 11-22 (1980).
13. P. Ander and K.-E. Eriksson, *Progr. Ind. Microbiol.* **14**, 1-58 (1978).
14. E. Adler, *Wood Science Technol.* **11**, 169-218 (1979).
15. G.G. Gross, *Recent Adv. Phytochem.* **12**, 177-220 (1979).

16. P. Hall, *Enzyme Microb. Technol.* 1, 170-176 (1980).
17. W.C. Evans, *Nature (London)* 270, 17-22 (1977).
18. S.W. Drew and K.L. Kadam, *Dev. Ind. Microbiol.* 20, 153-161 (1979).
19. D. Norris, *Appl. Environ. Microbiol.* 40, 376-380 (1980).
20. W.E. Eslyn, T.K. Kirk and M.J. Effland, *Phytopathology* 65, 473-476 (1975).
21. H.H. Burdsall and W.E. Eslyn, *Mycotaxon* 1, 123-133 (1974).
22. T.K. Kirk, E. Schultz, W.J. Connors, L. Lorenz and J.E. Zeikus, *Arch. Microbiol.* 117, 277-285 (1978).
23. P. Keyser, T.K. Kirk and J.G. Zeikus, *J. Bacteriol.* 135, 790-797 (1978).
24. T.K. Kirk and H.-m. Chang, *Holzforschung* 29, 56-64 (1975).
25. F. Nakatsubo, T.K. Kirk, M. Shimada and T. Higuchi, *Arch. Microbiol.* 128, 416-420 (1981).
26. K. Lundquist, T.K. Kirk and W.J. Connors, *Arch. Microbiol.* 112, 291-296 (1977).
27. W.W. Wilcox, US Forest Serv. Res. Paper FPL 70, Forest Products Laboratory, Madison, Wis. (1968).
28. T.K. Kirk, L.F. Lorenz, and H.-m. Chang, *Wood Sci. Technol.* 9, 81-86 (1975).
29. T.K. Kirk, W.J. Connors, and J.G. Zeikus, *Appl. Environ. Microbiol.* 32, 192-194 (1976).
30. K. Kawase, J. Faculty Agric. Hokkaido Univ., Sapporo, Japan, 52, 186-245 (1962).
31. E.B. Cowling, USDA Tech. Bull 1258 (1961).
32. T.K. Kirk, *Phytopathology* 2973, 63, 504-507 (1973)
33. P. Ander and K.E. Eriksson, *Sven. Papperatidn* 78, 643-652 (1975).
34. K.-E. Eriksson, P. Ander, B. Henningsson, T. Nilsson, and B. Goodell, US Pat. 3962033 (1976).
35. H.H. Yang, M.J. Effland and T.K. Kirk, *Biotechnol. Bioeng.* 22, 65-77 (1980).
36. L. Samuelsson, P.J. Miöberg, N. Hartler, L. Vallander and K.-E. Eriksson, *Sven. Papperstidn* 83, 221-225 (1980).
37. T.K. Kirk and H.H. Yang, *Biotechnol. Lett.* 1, 347-352 (1979).
38. W. Knoche, E. Cruz-Coke, and M. Pacotet, *Zentralbl. Bakteriol. (2)* 79, 427-431 (1929).
39. H. Kuhlweign, *Zentralbl. Bakteriol. (2)* 116, 294-299 (1963).
40. M.A. Millett, A.J. Baker and L.D. Satter, *Biotechnol. Bioeng. Symp.* 6, 125-153 (1976).
41. L.A. Lindenfelser, R.W. Detory, J.M. Ramstak, and K.A. Worden, *Dev. Ind. Microbiol.* 20, 541-551 (1979).
42. F. Zadrazil, *Eur. J. Appl. Microbiol.* 4, 273-281 (1977).
43. A.J. Daugulis and D.H. Bone, *Eur. J. Appl. Microbiol.* 4, 159-166 (1977).
44. P.P. Metteau and D.H. Bone, *Biotechnol. Lett.* 2, 127-132 (1980).
45. G.F. Leatham, Ph.D. Theiss University of Wisconsin, Madison (1979).
46. I. Goldstein, *Science* 189, 847-852 (1975).
47. F.W. Herrick and H.L. Hergert, *Recent Adv. Phytochem.* 11, 443-515 (1977).
48. T.K. Kirk and E. Adler, *Acta Chem. Scand.* 24, 3379-3390 (1970).
49. R.L. Antonie, *Fixed Biological Surfaces-Wastewater Treatment* CPC Press, Boca Raton, Florida (1976).
50. S.S. Bar-Lev and T.K. Kirk, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 99, 373-378 (1981).
51. T.K. Kirk and H.-m. Chang, *Enzyme Microb. Technol.* 3, 189-196 (1981).