

갈색 腐朽菌에 의한 木材成分의 分解메카니즘과 그 방제대책*1

Barry S. Goodell*2

On the Breakdown Mechanism of Wood Lignocellulose by Brown Rot Fungi & Treatment Method for their Control.*1

Barry S. Goodell*2

1. 목재부후균에 대한 면역학적 방법의 응용

목재는 목재부후균에 의해 고분자 물질인 Cellulose, hemicellulose 및 lignin등이 저분자 물질로 분해된다. 갈색부후균의 특징은 초기 부후단계에서 섬유소의 중합도를 급격히 떨어뜨리며 인장강도의 급격한 감소를 나타낸다. 문제는 갈색부후균의 경우 초기 부후단계의 탐지가 대단히 어렵다는 점이다. 지금까지 부후의 탐지를 위해 사용되는 방법으로 현미경적 방법, 화학적 방법 등이 있으나, 이 방법들은 대체로 중량 감소율이 20% 이상일 때만 탐지가 가능하다는 문제점을 갖고 있다.

따라서 우리 연구팀은 갈색부후균의 균체외 대사물질을 항원으로 하여 뉴질랜드산 백토에 주사시켜 이에 대한 항체를 생산하고, 생산된 항체의 특이성(specificity)과 민감성(sensitivity)을 ELISA(Enzyme-linked immunosorbent assay) 방법을 통해 검증하였다.

표1. 초기부후의 물리적, 화학적 및 생화학적 방법에 의한 검증

	ELISA법	전기저항도	pH
control	-	31	5.1
백색부후	+	20	4.2
갈색부후	+	9	3.5

ELISA로 검증한 결과 본 연구팀이 생산한 항체는 매우 높은 특이성과 민감성을 보여주었다. 이같은 결과로부터 ELISA를 사용하여 초기 부후 탐지가 정성적으로 뿐만 아니라 정량적으로도 분석이 가능함이 밝혀졌다. 현재까지의 실험결과 초기 부후단계(중량감소율 1.0% 미만)의 목재는 ELISA법에 의해 양성반응을 나타냈다.

항체의 특이성을 더 높이기 위하여 리그닌분해효소(Mn⁺⁺ dependent lignin peroxidase)를 사용하여 단클론항체를 생산하였다. 단클론항체 생산은 상법에 따라 실시하였으며, 생산된 clon 중 ELISA 값이 높은 것들은 다음과 같다.

*1. 접수 1991년 4월 15일. Received April 15, 1991 본 자료는 1991.3.24-3.31까지 한국과학재단의 지원에 의해 이루어진 세미나내용을 全南大 林産加工學科 金潤受 教授가 번역 요약한 것임.
*2. 미국 메인大學校 木材工學科 부교수, Associate Professor Dept. of Wood Science and Technology, University of Maine, USA.

표2. Mn⁺⁺ lignin peroxidase

Colony No.	ELISA-value
301	0.52
324	0.94
405	0.79
327	1.61
320	0.84

이상의 연구결과로부터 목재부후균의 균체의 대사물질을 사용하여 항체생산이 가능하며, 생산된 항체의 특이성과 민감성 때문에 여러 분야에서 이 항체들이 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

2. 금표지 면역방법에 의한 부후효소의 거동에 관한 초미시구조적 연구

목재의 갈색 및 백색 부후균의 대사물질이 목재부후과정중 어떻게 거동하는가를 구명하기 위하여 진술한 항체에 gold particles를 labelling하여 TEM를 사용 관찰하였다. 전자현미경 관찰 결과 갈색부후균의 vesicle에 cellulase항체가 labelling됨으로써 이것이 cellulase 생산에 관여하는 것으로 나타났다. 갈색부후의 경우 초기 부후단계에서는 섬유소 분해효소의 목재세포벽으로의 침투가 힘든 것으로 나타났으나 부후가 진행됨에 따라 효소의 침투가 되는 것으로 나타났다. 부후의 말기단계에 가서도 리그닌이 많은 중간층 또는 cell corner에는 gold labelling이 나타나지 않았다. 흥미롭게도 몇 시편에서는 cell corner에서도 gold labelling이 positive하게 나타났다. 이같은 결과는 cell corner에 pectin 또는 hemicellulose가 존재하고 있음을 보여 주는 것으로서 특히 활엽수의 경우 더 현저하였다. Mn⁺⁺ ligninase의 단클론항체에 gold로 labelling시켜 전자현미경으로 관찰한 결과 목재세포벽보다 주로 중간층에 금표지가 돼 있음을 보여 주었다.

3. 최근 분리된 siderphore에 대하여

목재세포벽 구성성분의 분해 기작에 대해서는 아직도 확실히 규명되지 않고 있다. 그것은 지금까지 알려진 효소는 너무도 커서 목재세포벽내의 미시공극을 뚫고 들어갈 수 없기 때문이다. 최근 본 연구팀은 목재부후균으로부터 siderphore를 분리하였으며 이것이 섬유소의 분해 뿐 아니라 리그닌의 분해의 전구체(precursor)로 작용하는 것임을 탐지할 수 있었다.

Siderphore는 세균이나 진균들이 주위환경으로부터 철분을 scavenging하기 위해 분비하는 화합물로서 분자량은 500 dalton 정도이며, 3가의 철(Kf 10)이온에 큰 친화성을 갖는다. 이것은 효소에 비하면 아주 적은 것으로 그 기능은 철이온을 세포에 적절히 공급하는 것이다. 우리 실험실은 목재부후균에도 siderphore가 존재하고 있음을 최초로 발견하였다. 즉 C-AS(chrom azure assay) 방법을 통하여 siderphore를 분비하는 부후균류들은 한천배지에서 또는 액체배지에서 양성반응이 나타남을 확인하였다. 액체배지내에 Mn과 Fe의 양이 많으면 많을수록 siderphore는 그 생산이 적은 반면, Mn과 Fe이 적으면 적을수록 siderphore는 그 생산이 증가하는 것으로 나타났다. Siderphore는 철, 망간 뿐 아니라 전이금속과도 연관성을 갖는다. 흥미로운 사실은 배지내에 철분성분이 많으면 균사의 slime의 생산이 적은 반면 철분이 적을 경우 균사의 slime생산이 활발해져 그 두께가 증가되는 것으로 나타났다. 흥미로운 사실은 갈색부후균 뿐 아니라 백색부후균도 CAS에 양성반응을 나타냄으로써 siderphore가 리그닌 분해에도 관여하고 있음을 보여 주었다.

우리 연구팀은 지금까지 갈색부후균인 Gloeophyllum trabeum을 주로하여 연구하였다. 즉 액체배양액을 여과시켜 한외여과법을 사용 분자량 1,000 이하만을 농축하여 XAD 컬럼을 통해 methanol로 elute시켜 ethyl acetate로 추출한 다음 TLC 또는 HPLC로 정제하여 순수한 siderphore를 얻을 수 있었다.

이 siderphore에 대해 항체를 얻어 immuno-TEM으로 관찰 결과 gold labelling이 주로 균사벽에 분포되어 있을 뿐 아니라 목재세포벽에도 존재하였다. 금표지는 초기 부후단계에서 탐지되었으며, 부후가 진행됨에 따라 중간층과 corner를 제외하고는 모든 세포벽에 나타났다. 특히 electron-less dense 지역에 주로 분포하는 것으로 보아서 siderphore가 목재분해와 밀접한 관계가 있음을 확인할 수 있었다. HPLC, NMR 및 MS 등을 통해 이 siderphore의 화학적 구조를 구명중인 바 현재까지 밝혀진 바로는 철이온이 세 개의 phenol ring으로 둘러 쌓인 강력한 chelator이며, 페놀환은 peptide chain으로 둘러 쌓여 있다.

Siderphore가 섬유소 분해에 관계가 있을 것이라는 가설은 cellulose azure assay 결과 양성으로 나타남으로써 siderphore가 섬유소의쇄상분자를 exo-cleavage로 분해되는 것으로 나타남으로써 입증되었다. siderphore를 주입시킬 경우 KTBA로부터 ethylen이 증가되었다. 이 사실은 전자 하나가 산화되었음을 의미한다. 최근의 실험결과 siderphore는 결정성 섬유소를 분해하며, 섬유소의 점도 역시 감소시키는 것으로 나타났다.

Siderphore는 리그닌도 공격하는 것으로 생각되나 이에 대한 분석은 실시하지 않았다. 또한 이물질은 식물병원체들이 식물의 세포벽 분해시 관여할 것으로 사료된다.

결론적으로 목재부후균은 siderphore를 분비하며, 이 물질은 섬유소 분해에 관여할 뿐만 아니라 리그닌의 분해에도 관여하는 것으로 나타났다.

이상의 강연을 요약하자면

- 1) 목재부후균에서 분비되는 효소는 부후의 후기 단계에서만 목재세포벽을 투과할 수 있다.
- 2) 효소의 종류에 따라 목재세포벽에 국재(localization)하는 곳이 다르다.
- 3) 면역학적 방법으로 초기 부후의 탐지가

가능하다.

- 4) Siderphore가 목재의 분해과정에 매우 중요한 역할을 한다.

이상과 같은 지식들은 bioprocessing에 어떻게 적용할 수 있는가를 생각해 보자. 현재 목재 성분중 리그닌을 선택적으로 분해시키기 위해서 cellulose-less한 변이주를 개발하였으며, ligninase 역시 상업적으로 생산되고는 있지만 문제는 그 효율이 높지 않다는 점이며, 효소의 안정을 위해서 새로운 방법이 개발되어야 할 문제를 남기고 있다. 이에 반해서 siderphore는 매우 안정된 화합물이기 때문에 상업적으로 응용이 가능할 것으로 생각된다.

4. 방부제 주입이 곤란한 수종에 대한 새로운 주입방법

본인이 재직하고 있는 미국의 Maine주는 가문비나무가 주종을 이루고 있으나, 이 나무는 방부제 주입이 어렵다는 문제점을 가지고 있다. 이같은 문제점을 해결하기 위하여 시도될 수 있는 방법은 다음과 같다.

- 1) pulsation pressure treatment
- 2) conventional incising
- 3) center boring
- 4) kerfing

본인은 오늘 이같은 방법중 center boring, kerfing과 생물학적 방법을 이용한 보존체 침투 용이성의 제고 방법 및 laser를 사용한 incising 방법에 대해 논의하고자 한다. 전처리로 사용했던 방법 중 kerfing법 자체는 새로운 방법은 아니다. 2천년 전부터 일본에서 목조건축물을 지을 때 사용했던 방법이다. 차이가 있다면 목재보존에서 사용하는 것은 원통목이라는 점이다. Kerfing이란 원통목의 외부에서 내부로 한 곳에만 틈질을 함으로써 원통목이 활열이 발생되지 않으면서 동시에 보존체의 주입을 용이하게 하는 일석이조의 효과를 얻을 수 있다.

또한 중심부 천공법은 원목의 중간부위까지

의 중심부를 천공하는 방법이다. 이 방법은 원목의 활열을 방지할 뿐 아니라 목재보존제를 목재내부에까지 침투시킬수 있으며 봉소 또는 훈증제로 보완처리(supplemental treatment)할수 있는 장점이 있다. 중심부를 천공했다해서 원목의 강도감소는 나타나지 않는다.

본 연구팀은 kerfing과 중심천공 및 incis-ing한 원목을 pulsation에 의한 방법으로 방부제를 주입한 200주 정도를 옥외에서 실험하여 그 효력성능을 검증하였다. 즉 CCA로 처리 후 중심부 천공부위에 여러 종류의 보존제(예 Bo-rax, fluoride, Vapam, chloropicrin 등)을 재처리하여 보존효과를 시험하였다. 효력성능의 검증방법으로는 일정기간마다 성장추를 사용하여 increment core를 채취하여 한천배지에 배양하여 미생물의 성장을 점검하였다. 시험결과 3,734개의 시편중 2,012개의 시편에서 세균이 검출되었으며, 부후균은 139개의 시편에서 검출되었다. 이밖에 부후균으로 추정된 시편은 20개, 부후균이 아닌 기타 진균류가 571개 시편에서 검출되었다.

대체로 대부분의 시편에서 세균이 나타났다. 그러나 ammonium bifluoride로 처리한 시편의 경우 진균류 뿐 아니라 세균까지도 제거시키는 것으로 나타났다. 보존제로 처리하지 않는 소위 control 시편에서는 3년이 지난 후 상당수의 부후균이 분리된 데 반하여 중심부 천공법의 시편에는 극소량의 부후균만이 나타났다. 우리들은 2년 후 시편들을 다시 채취하여 효력을 재검증할 예정이다. 본 실험 결과 흥미로운 것은 borax로 처리한 시편은 부후균이 거의 검출되지 않았다는 점이다. 잘 알려지다시피 borate는 용탈성이 그 단점이나 인체에 대한 독성이 가장 적은 안전한 보존제라는 장점이 있다. 이러한 측면에서 borax로 처리한 시편의 결과는

매우 고무적이라 하겠다. 본 실험결과는 kerfing과 center boring이 효과적인 처리방법인 것으로 나타났다. 다만 현실적인 측면에서 kerfing법이 보다 용이한 공정이며 경제적인 방법임을 밝혀두고자 한다.

목재내에 약제의 주입성을 제고시키기 위한 생물학적 방법으로는 지금까지 주로 세균을 사용하여 시도해 왔다. 즉 저수장에 장기간 목재를 저장함으로써 세균이 목재세포벽은 분해하지 않고 벽공을 파괴하기 때문에 약제의 주입을 증가시키게하는 방법이 그것이다.

세균이외에 다른 미생물로서 변색균을 사용할 경우 변재에의 약제 침투량은 극소량 증가하나 심재에서 전혀 효과가 나타나지 않았다. 본 연구팀은 따라서 심재까지도 약제가 침투하기 위해서는 심재도 공격하는 백색부후균을 사용하여 약제침투의 증가가 이루어지는가를 시도하였다. 초기에 강도를 급격히 감소시키는 갈색 부후균과는 달리 백색부후균을 실온에서 5-6주 목재에 배양시킨다 할지라도 강도의 변화는 크지 않다는 점도 백색부후균을 선택한 또다른 이유가 된다. 백색부후균이 성장하고 있는 액체배지를 농축시킨 다음 이것을 목재 표면에 분무하고 또 polyvinyl로 둘러 싸 균이 잘 자랄 수 있도록 처리한 다음 6주 동안 incubation시켰다. 실험결과는 다음 표와 같다.

실험결과는 매우 다양하게 나타났다. 따라서 더 많은 연구가 계속되어야 할 것이나 현재까지의 실험결과는 백색부후균의 경우 강도의 변화가 거의 없는 상태에서 약제의 침투가 증가되는 긍정적인 반응을 나타냈다. 이것은 약제가 백색부후균이 이미 분해한 목질부 내부에까지 용이하게 침투한다는 것을 의미한다 하겠다. 약제침투를 용이하게 하기 위한 또 하나의 전처리방법으로 본 연구자는 Virginia Poly

	Control	C.versicolor	Ph.chrysosporium	G.tremules	P.pini
MOR	8631	8853	7935	8289	7489
약제침투면적(%)	26.86	30.9	34.27	63.01	44.50

Tech. 의 Fred Wenki와 공동으로 laser incising을 실시하였다. 본 시험에서는 laser를 이용하여 목재에 incising을 시켰으며 상업적으로 이용되고 있는 multiple beam이 아닌 single beam laser를 사용하여 가문비나무에 incising 시켰다. Incising pattern은 EMP I-lap 방법과 WEI pattern을 사용하였다. 실험결과 output level이 증가하고 milliseconds가 증가할수록 약제의 침투량은 증가하였다. 그러나 pattern의 종류에 따라 incising한 부위가 검게 탄 흔적이 남아있게 되어 외관상 소비자에게 나쁜 인상을 줄 수 있다는 문제가 발생되었다. 이것은 laser beam의 열에 의한 것으로 생재의 시편을 사용할 경우 이같은 탄흔은 없어질 것으로 생

각된다. Laser incising으로 강도의 변화는 거의 찾아볼 수 없었다. 그러나 WEI type으로 incising한 시편의 경우 incising한 방향으로 할열과 파괴가 일어남이 발견되었다. 따라서 EMP I-lap II 방법으로 incising하는 것이 바람직한 것으로 나타났다. Incising을 laser로 할 경우 laser가 매우 고가라는 문제점이 발생한다. 그러나 가문비나무의 경우 방부제 주입을 위해 사전에 목재에 건조시켜 조습시켜야 하며, 이에 따른 경비가 대단히 많을 든다는 사실과 연관지어 볼 때 laser의 사용이 반드시 경제적으로 비효율적이라고는 말할 수 없다 하겠다. 그 이유는 laser는 생재상태의 목재에 적용시킬 수 있기 때문이다.