

褐色腐朽木材의 X線 回折 및 IR 分析*1

崔芝昊·韓玉洙·金潤受*2

X-Ray Diffractonal and IR Spectral Characteristics in Brown-Rotted Woods Decayed by *T. palustris* and *G. trabeum*.*1

Ji-Ho Choi · Ok-Soo Han · Yoon-Soo Kim*2

ABSTRACT

Japanese red pine (*Pinus densiflora* S. et. Z.) decayed by brown-rot fungi *Tyromyces palustris* and *Gloeophyllum trabeum* were subjected to X-ray diffraction analysis and infrared spectral examinations. Pine woods decayed by *T. palustris* showed the increase of relative crystallinity in the initial stage of degradation. When the weight loss was above 30%, then the crystallinity went down slowly. In contrast, the wood samples degraded by *G. trabeum* showed the decrease of crystallinity from the beginning stage of decay. The changes of crystallinity in brown-rotted woods suggested that the degradation rate of crystalline cellulose was varied with the brown rot fungal species. X-ray diffraction analyses also indicated that crystalline cellulose was much more slowly broken down than the amorphous one.

The most notable difference in the IR spectra of the brown-rotted wood samples was that the adsorption band centered at $1,730\text{cm}^{-1}$ was significantly diminished in the decayed wood, indicating the degradation of hemicellulose by brown-rot fungi. However, no marked changes of intensities at $1,000, 1,060$ and $1,040\text{cm}^{-1}$ were observed in the brown-rotted wood samples, suggesting that crystalline cellulose was resistant against the attack by brown-rot fungi.

Keywords : X-ray diffraction, IR spectra, brown-rot, *Pinus densiflora*, *Tyromyces palustris*, *Gloeophyllum trabeum*

1. 緒 論

纖維素의 酵素의 分解는 exo-glucanase, endo-glucanase 및 β -glucosidase가 상보적으로 作用해 分解된다는 것이 일반화된 정설이다.²⁾ 그러나

褐色腐朽菌(brown-rot fungi)은 結晶形纖維素(crystalline cellulose)의 分解에 關여하는 exo-glucanase(一名 C_1 -cellulase)가 存在하지 不음에도, 腐朽초기에 纖維素를 급격히 解重合(depolymerization)시키는 特徵을 갖는다. endoglu-

*1 接受日字 1992年 9月 13日 Received September 13, 1992

本 研究는 한국 과학재단 91 일반목적기초연구(과제번호 911--1507-046-2)의 일환으로 수행된 것임.

*2 全南大學校 農科大學 College of Agriculture, Chonnam National University, Kwangju 500-757, Korea

canase(一名 CMC-ase 또는 Cx-cellulase)밖에 없는褐色腐朽菌이 어떻게木材纖維素를分解시키는가에 대한 메카니즘은 아직도 規明되지 않고 있다.

본 연구는 따라서褐色腐朽菌의纖維素分解特性을 파악해 보고자褐色腐朽菌에 의한木材纖維素의相對結晶化度の 변화와木材構成成分의化學的變化를 X線 回折方法과 IR 分析을 통해 알아 보았다. 특히褐色腐朽菌의 종류에 따라結晶形纖維素의分解가 어떻게 달라지는가에 유의하였다.

2. 材料 및 方法

2.1 重量減少率 測定

ASTM方法(D: 1413-61)에 따라 소나무(*Pinus densiflora* S.et.Z.)木片(10×10×5mm)에 *Tyromyces palustris* 및 *Gloeophyllum trabeum* 균주를 사용하여 25℃에서 soil block test를 실시하였다. 본 실험에 사용된 供試菌은 Canada의 Forintek과 日本 京都大學 木質科學研究所에서 분양받았다.

木片은 2, 4, 6, 8, 12, 16주 간격으로 採取하여 105℃에서 乾燥하여 重量에 달한 다음 重量減少率을 算出하였다.

2.2 相對結晶化度の 測定

重量減少率별로 분류된 木片을 Willy Mill(DS-MO 820)에서 100 mesh 되도록 磨碎하여 X-ray 回折裝置(Rigaku, Gieger flex D/max-3C)를 사용하여 相對結晶化度を 測定하였다. 回折機의 분석조건은 다음과 같다.

管電壓: 35KV

chart speed: 4°(2θ) / min.

管電流: 15mA

full scale: 10³ cps

纖維素의 結晶化도는 Segal法¹¹⁾에 의해 구했다. 즉, 結晶化度(%) = $[I_{002} - I_{am} / I_{002}] \times 100$ 의 式에 따라다.

여기서

I_{002} = 22.8°의 peak intensity

I_{am} = 19°에서의 peak intensity

2.3 赤外線 分光分析

100 mesh로 磨碎된 木片 1mg과 分光機用 KBr 300mg을 混合하여 500Kg/cm²의 압력으로 5분간 압착한 다음 두께 0.2mm, 직경 1cm의 disk를 얻어 Shimadzu IR-435를 사용하여 파장 4,000 ~ 400cm⁻¹에서 spectra를 測定하였다.

3. 結果 및 考察

褐色腐朽의 進行에 따른 소나무木片의 X線回折度의 변화는 Fig.1과 Fig.2에 나타난바와 같다. *T. palustris*에 의해 腐朽된 소나무木片의 경우 結晶形纖維素를 가르키는 (002)面(2θ=22.8°)에서의 peak 강도는 Fig.1에서 보는 바와 같이 重量減少率이 30%에 달할 때까지 그 減少를 나타내지 않았다. *T. palustris*에 의해 腐朽된 소나무의 경우 重量減少率이 10%, 20%, 30%이었을 때 纖維素의

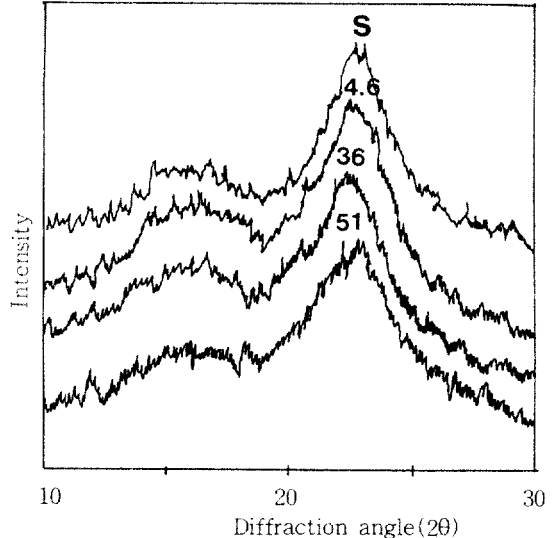


Fig 1. X-ray diffractograms of *P. densiflora* decayed by *T. palustris*. S: sound wood samples (no decay): Numbers on diffractograms represent the weight loss of decayed wood samples.

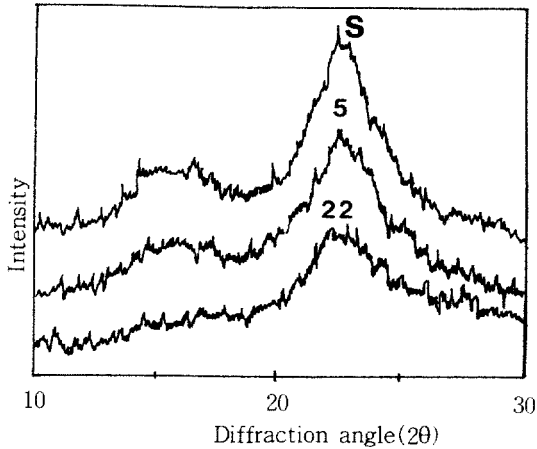


Fig 2. X-ray diffractograms of *P. densiflora* decayed by *G. trabeum*. S: sound wood samples (no decay): Numbers on diffractograms represent the weight loss of wood samples.

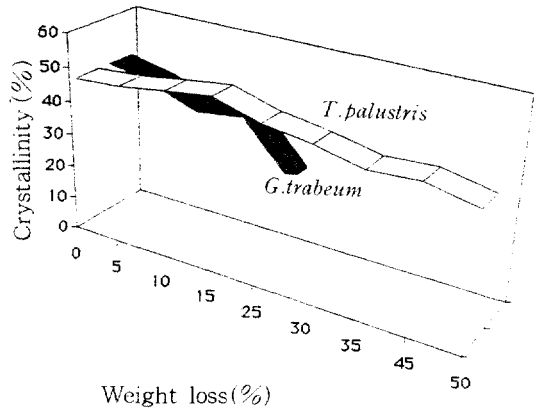


Fig 3. Changes of crystallinity with weight loss of Japanese red pine decayed by brown-rot fungi: *T. palustris* and *G. trabeum*.

結晶化度は 각각 49%, 51% 및 45%로서 腐朽初期 단계에서는 結晶化도가 오히려 增加하였다. 重量減少率이 30% 이상 진행된 후에야 結晶化도의 減少를 나타냈다(Fig.3 참조). 重量減少率이 50%에 달했을 때의 結晶化도는 40%로서 未腐朽材의 結晶化도보다 13%減少함으로써 重量減少에 따른 相對結晶化도의 減少의 정도는 높지 않았다.

Ishihara 등⁶⁾은 *T. palustris*에 의해 腐朽된 활엽수재의 경우 重量減少率이 20%에 달할 때까지는 相對結晶化도가 增加하였으며, 20% 이후에야 纖維素 結晶化도의 減少를 보였다고 보고한 바 있다. Highley를 비롯한 몇몇 研究者들 역시 褐色腐朽菌에 의해 分解된 木綿(cotton cellulose)의 結晶化도 역시 分解받지 않는 것보다 오히려 增加되었음을 최근 보고하고 있다.^{5,8,10)} Fukuda와 Haraguchi 등³⁾은 微小菌類(子囊菌과 不完全菌類)에 의한 腐朽材의 結晶化도는 重量減少率이 20% 이하의 단계에서는 未腐朽材보다 높았으며, 重量減少率이 20% 이상이 될 때만 纖維素의 結晶化도는 減少하였음을 보고 하였다.擔子菌에 속하는 褐色腐朽菌은 多糖類 특히 纖維素를 우선적으로 分解함에도 불구하고, 이들 菌에 의한 腐朽木材의 相對結晶化도가 增加되어 나타났다는 결과로부터

*T. palustris*는 다른 褐色腐朽菌처럼 非結晶形纖維素를 주로 分解하는 것으로 파악 되었다.^{1,5,6)}

본 연구에 供試된 또다른 褐色腐朽菌 *G. trabeum*에 의해 腐朽된 소나무의 結晶化도의 변화는 *T. palustris*와는 달리 腐朽가 진행됨에 따라 纖維素의 相對結晶化도는 계속 감소하였다(Fig.2 및 Fig 3). 즉 初期腐朽段階인 重量減少率 5%와 10%일 때의 相對結晶化도는 각각 43%와 32%였으며 重量減少率이 20%일 때의 相對結晶化도는 28%로부터 원래의 相對結晶化도에 비해 15%가 減少되어 나타났다.

*G. trabeum*과 *T. palustris*에 의한 腐朽材의 相對結晶化도의 변화는 褐色腐朽菌의 종류에 따라 結晶形纖維素의 分解能이 다음을 나타내고 있다. *T. palustris*의 경우, 非結晶形纖維素의 分解率이 結晶形纖維素의 分解率보다 훨씬 높기 때문에 X線 回折度상에서 마치 結晶化도가 增加한 것처럼 나타난 반면 *G. trabeum*은 結晶形纖維素의 分解率이 非結晶形纖維素의 分解率보다 앞서고 있음을 X線 回折分析은 시사하고 있다.

本 實驗으로부터 *G. trabeum*은 *T. palustris*에 비해 結晶形纖維素를 分解할 수 있는 보다 강력한 分解體系를 갖고 있음을 推論할 수 있다. 최근

Jellison⁷⁾ 등은 結晶形纖維素를 分解할 수 있는 siderophores가 *G. trabeum*에 存在함을 보고한 바 있다. 그러나 褐色腐朽菌에 의한 結晶形纖維素 分解가 이들 腐朽菌의 低分子植物에 의한 非酵素的 分解에 의해서 일어나는 것인지 아니면 木材細胞 壁을 透過할 수 있는 低分子량의 酵素的 作用에 基因하는 것인지는 앞으로 더 많은 研究와 檢證이 있어야 할 것이다. Cowling¹⁾은 褐色腐朽材의 경우 X線 回折度상의 結晶化도가 크게 나타나지 않는 이유로서 結晶形纖維素와 非結晶形纖維素의 比率에 變化가 없기 때문인 것으로 推論하였다.

3.2 赤外線 分光分析

*T. palustris*와 *G. trabeum*을 接種하여 重量減少 測定 實驗을 하였던 소나무木片의 IR spectra는 각각 Fig. 4~Fig. 5에 나타난 바와 같다.

*T. palustris*와 *G. trabeum*을 接種하여 腐朽시킨 소나무木片은 IR spectra上에서 重量減少가 되어짐에 따라 1,730cm⁻¹ band가 消滅되고, 1,700~1,600cm⁻¹ 구간의 넓어지며 1,400, 1,380, 1,300, 890cm⁻¹에서의 intensity가 減少한 반면 1,500 cm⁻¹ band의 強度의 增加를 나타냈다(Fig. 4). IR spectra의 이같은 變化는 Takahashi와 Nishimoto¹²⁾의 褐色腐朽材를 사용한 IR分析과 대체로 유사하였다. IR分析은 褐色腐朽의 경우 hemicellulose와 cellulose에 歸屬하는 흡수대가

급속히 減少 또는 消失되며 多糖類의 消失에 따라 리그닌은 상대적으로 增加한 것으로 나타났다. 특히 腐朽初期 1,730cm⁻¹ 흡수대의 현저한 減少는 褐色腐朽菌의 경우 hemicellulose의 분해가 현저함을 의미한다.²³⁾ 그러나 褐色腐朽菌에 의한 hemicellulose의 분해가 cellulose의 분해에 앞서 먼저 일어나는지 아니면 同時에 分解되는지는 본 실험에서는 확인할 수 없었다. 최근 본 실험실에서는 xylan과 cellulose를 동시에 분해할 수 있는 低分子량의 xylanase를 單離하였던 바(金潤受 未發表 資料), 褐色腐朽의 경우 hemicellulose와 cellulose가 同時에 分解될 可能性이 큰 것으로 推論된다.

Gibson과 Krahmer¹⁾는 褐色腐朽의 初期 診斷法의 하나로서 1,720cm⁻¹ 부위의 消失을 지적한 바 있으며 Kuo⁶⁾도 FTIR을 사용, 褐色腐朽 木材에서 1,730cm⁻¹과 895cm⁻¹ 흡수대의 消滅 내지는 減少를 探知하였다.

Fukuda와 Harakuchi³⁾는 미소균류에 의한 腐朽材의 경우 1,740cm⁻¹에서의 強度가 正常材의 그것보다 적으며 890cm⁻¹의 흡수대의 消滅로부터 미소균류가 cellulose와 hemicellulose를 우선적으로 分解함을 IR spectra 분석을 통해 밝힌바 있다. IR spectra로부터 多糖類를 분해하는 眞菌類는 그것이 擔子菌이든, 子囊菌이든, 不完全菌類이든간에 1,730cm⁻¹의 흡수대의 소실이 공통적으로 나타남을 확인할 수 있었다.

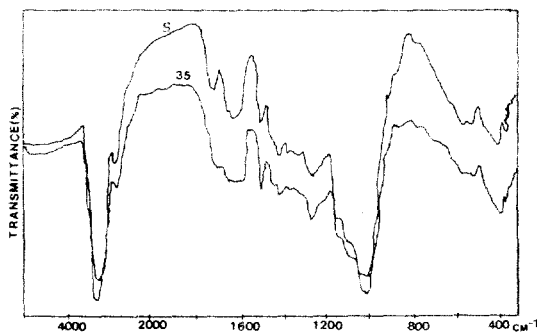


Fig 4. Infrared spectra of *P. densiflora* decayed by brown-rot fungus, *T. palustris*. S : sound wood samples ; Number on spectra represent the weight loss of decayed wood samples.

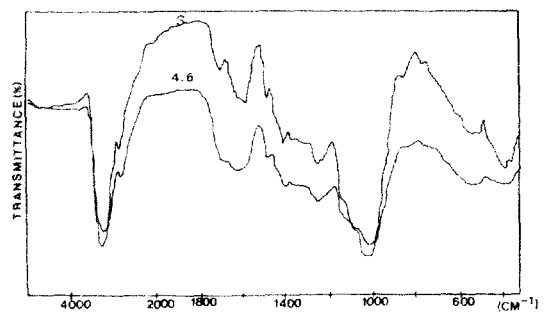


Fig 5. Infrared spectra of *P. densiflora* decayed by brown-rot fungus *G. trabeum*. S : sound wood samples ; Number on spectra represent the weight loss of decayed wood samples.

Taniguchi 등¹³⁾은 結晶形 纖維素가 存在할 경우 1,100, 1,060 및 1,040cm⁻¹에서의 band가 존재함을 보고하였다. 본 실험에 供試된 *T. palustris* 褐色 腐朽材의 경우 상기한 3 band가 현저하게 消失되지 않고 殘存함으로써(Fig. 5) 褐色腐朽菌에 의한 結晶形 纖維素의 分解는 매우 더딘 것으로 나타났다. 이같은 특징은 *G. trabeum*의 경우에도 마찬가지였다. 褐色腐朽材의 IR spectra에는 結晶形 纖維素를 가리키는 band가 계속 존재함으로써 褐色腐朽菌의 結晶形 纖維素의 分解能이 크지 않음을 아울러 시사했다. 그러나 IR分析을 통한 結晶形 纖維素 分析의 探知는 既存의 IR分析自體가 갖는 限界 때문에 그 해석에 주의를 요한다 하겠다.

4. 結 論

褐色腐朽菌에 의한 木材腐朽時 纖維素의 相對 結晶化度의 變化를 X線回折法을 통해 측정된 결과 *T. palustris*의 경우 重量減少率 30%까지는 相對 結晶化도는 오히려 增加하였으며, 重量減少率 30%以上부터 結晶化度の 減少를 나타냈다. 反面 *G. trabeum*은 腐朽初期부터 結晶化度の 減少를 보였다. 그러나 上記 두菌에 의한 相對 結晶化度の 減少는 緩慢한 것이었다. 赤外線分光分析결과 褐色腐朽材는 重量減少가 되어짐에 따라 1,730 cm⁻¹band가 消滅되고, 1,700cm⁻¹구간이 넓어지며, 1,500cm⁻¹에서의 intensity의 증가와 1,400, 1,380, 1,300, 890cm⁻¹에서의 intensity의 減少를 보임으로써 纖維素와 hemicellulose分解를 나타냈다. 특히 腐朽初期에 1,730cm⁻¹의 급격한 減少 또는 消失은 腐朽初期에 hemicellulose의 分解를 의미하였다. 腐朽材는 또한 1,100, 1,060 및 1,040cm⁻¹band에서 큰 變化를 보이지 않음으로써 褐色腐朽初期에는 結晶形 셀룰로스의 分解가 急激하지 않음을 나타내었다.

參 考 文 獻

1. Cowling, E. B. 1961. Comparative biochemistry of the decay of sweetgum sapwood by white rot and brown rot fungi.

- Tech. Bull. No. 1258. U.S. Dept. Agr : 79
2. Eriksson, K-E., R. A. Blanchette and P. Ander 1990. Microbial and Enzymatic Degradation of Wood and Wood Components. Springer-Verlag, New York : 89-222
3. Fukuda, K. and T. Haraguchi 1985. Action of microfungi on wood. *Mokuza: Chakkaiishi* 31 : 132-137
4. Gibson, D.G. and R.L. Kraemer 1985. Early detection of brown decay in Douglasfir and Southern yellow pine by infrared spectrophotometry. *Wood Fiber Sci.* 17 : 522-528
5. Highley, T.L., R. Ibach and T.K. Kirk 1988. Properties of cellulose degraded by the brown rot fungus *Postia placenta*. IRG/WP/Document No. 1350.
6. Ishihara, M. and K. Shimizu 1984. Chemical characteristics of brown rot by *Tyromyces palustris*. Bull. Jap. For. & For. Prod. Res. Inst. No. 330 : 141-152
7. Jellison, J., V. Chandhoke, B. Goodell, and F. Fekete 1991. The action of siderophores isolated from *Gloeophyllum trabeum* on the structure and crystallinity of cellulose compounds. IGR/WP/1479.
8. Kleman-Leyer, K., E. Agosin, H. Conner and T.K. Kirk 1992. Changes in molecular size distribution of cellulose during attack by white rot and brown rot fungi. *Appl. Environ. Microbiol.* 58 : 1266-1270
9. Kuo, M.L., J.F., McClelland, S. Luo, P.L. Chien, R.D. Walker and C.Y. Hse 1988. Application of infrared photocooustic spectroscopy for wood samples. *Wood Fiber Sci.* 20 : 132-145
10. Leightley, L.E. 1985. An insight into brown rot decay of timber as revealed by BCCP/MAS/NMR IRG/WP/1259
11. Segal, L., J.J., Creely, A.E. Jr. Martin and

- Conrad C.M., 1959. An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the X-ray diffractometer. *Text. Res. J.* : 786-794
12. Takahashi, M. and K., Nishimoto, 1967. Studies on the mechanism of wood decay (2), Changes in infrared spectra of buna and sugiwood. *Wood Res.* 42 : 1-12
13. Taniguchi, T., K. Okamura, H. Harada and K. Nakato, 1986. Accessibility and density of cell walls of unearthed buried woods. *Mokuzai Gakkaishi* 32 : 738-743