

펄프 製紙産業에서의 바이오테크놀로지 應用*1

金銀姬 · 吳正壽*2 · 趙炳默*3

Biotechnology in the Pulp and Paper Industry

Eun-Hee Kim · Joung-Soo Oh*2 · Byoung-Muk Jo*3

1. 서 론

생물공학(biotechnology)은 생물학적인 현상을 기술적으로 이용하는 것이다. 여러 분야에서 많은 잠재력으로 인해 지난 20년간 관심이 집중되어 왔으며 현재 생물공학은 새로운 가능성을 보여주고 있다.

임산가공공업의 원료는 목재이다. 이 산업에 생물공학을 적용할 수 있는 기본원리는 자연계에 존재하는 가장 중요한 생물현상의 하나인 ligno-cellulose 물질(예를 들면 목재나 농업부산물)이 미생물에 의해 분해되어 이산화탄소, 물 또는 부식질로 변환된다는 점의 이용이다. 생물공학의 가치는 환경적으로 보다 무해한 공정을 제공하고, 에너지를 절약하며, 비생물학적인 방법으로는 실현 불가능한 곳에 이용할 수 있다는 점이다.

따라서 펄프·제지산업은 바이오매스 자원에 의존한 산업이므로 생물학적 연구가 기초가 되는 것은 당연하다. 그러나 전부터 펄프화, 표백, 제지 등의 기본 프로세스로 생물학적인 기법이 취급된 것은 아니었다. 즉 펄프·제지산업에 있어서 생물공학의 전개에 대한 기대가 높아진 것은 상당한 기간이 지난 후였으며, 이를 공정에 도입하기 위하여 끊임없이 연구해 왔다. 그러나 경제적, 기술적 어려움으로 펄프·제지산업에 생물공학을 적용하기는 쉽지 않았다. 어쨌든 1983년에 lignase (리그닌분해효소)가 발견된 이래, 효소적인 처리에 의해 펄프화 또는 표백이 가능하게 되리라 기

대했으며, 또한 효소단독만이 아닌, 균자체를 처리하여 펄프화의 보조수단으로 사용하는 시도도 왕성해지게 되었다. 그 외에 리그닌 분해와는 반대로, 다당분해(多糖分解)에 관계하는 효소가 표백에 효과가 있는 것이 발견되었고, 현재도 활발하게 응용연구가 행해지고 있다. 펄프·제지산업의 응용적인 측면으로는 바이오펄핑(효소 또는 균에 의한 전처리 후의 화학펄프 또는 기계펄프화), 바이오표백(리그닌 분해효소에 의한 탈리그닌, 백색도의 향상 또는 퇴색의 억제, 헤미셀룰로오스의 분해에 의한 탈리그닌 촉진), 섬유소의 개질(회수섬유의 개질, 특수용도의 펄프제조), 폐수처리 등의 분야에 일부 응용되고 있다.

따라서 본 원고에서는 대표적인 리그닌분해균과 이들의 효소를 이용한 생물공학의 배경 및 리그닌분해효소 이외의 효소에 의한 펄프 제지응용 분야를 포함한 연구진전 및 응용사례를 몇 부분으로 나누어 소개하고자 한다.

2. 리그닌 생분해 기작

펄프·제지산업은 셀룰로오스의 이용이 주된 목적이므로 리그닌은 불필요하다. 따라서 통상 알칼리증해로 리그닌을 저분자화 하여 제거시킨다. 그러므로 생물공학의 여러가지 장점을 이용한 응용면에서 볼때 리그닌의 생분해는 필수적인 문제이며 미생물이나 이들의 효소에 의해 생분해의 기작을 이해하는 점도 중요하다.

*1 접수 1992년 9월 16일 Received September 16, 1992.

*2 동국대학교 농과대학 College of Agriculture, Dongguk University, Seoul 100-715, Korea.

*3 강원대학교 임과대학 College of Forestry, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea.

리그닌은 셀룰로오스 다음으로 가장 풍부한 천연고분자로서 phenylpropane 구조로 되어 있으며 탄소 함량이 셀룰로오스의 1.5배정도 이고, p-hydroxy cinnamyl alcohol의 탈수소적인 radical polymerization에 의해 생합성되는 복잡한 거대분자이다. 또한, unit간 몇개의 서로 다른 결합을 가지고 있고 이들 중 대부분이 비가수분해성이며 lignocellulosic material에서 다당류를 보호함과 동시에 미생물의 공격에 대한 목재의 저항성을 강하게 한다. 그 함량은 침엽수재에 27~30%, 활엽수재에 20~25%, 초본식물에는 15~25%이다. 또한 리그닌은 재생산되는 물질 중에서 셀룰로오스 다음으로 중요하며, 셀룰로오스와 헤미셀룰로오스는 수많은 fungi와 bacteria로부터 나온 효소에 의해 분해되지만, 리그닌을 분해하는 미생물은 극히 제한되어 있다.

분해과정에 대한 모식도는 Fig. 1에 도시하였다. 미생물 및 이들의 효소에 의한 리그닌 분해에 관한 연구는 많이 진행되어왔다. 리그닌 분해가

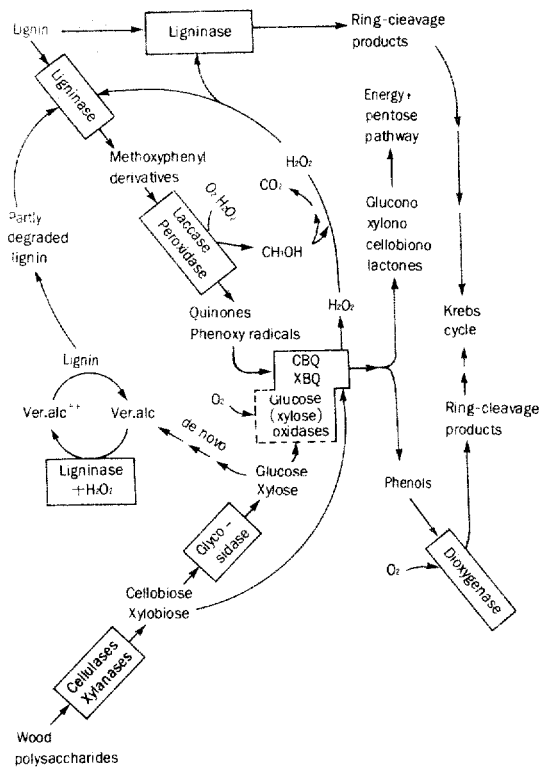


Fig. 1. Lignocellulosic 물질의 생분해 기작.³⁵⁾

일어나려면 phenol산화효소가 필요하다라는 것은 오래전부터 알려져 왔으며¹⁾ 리그닌 분해효소가 발견되면서 이 사실이 확인되었다.²⁾ 그러나 이 역시 다른 효소가 필요하다. 왜냐하면 동시에 고분자화할 수 있는 phenoxy radical을 phenol산화효소가 만들기 때문이다. 이 고분자화 반응은 리그닌 polymer가 생성되는 것을 방해하거나 반대로 리그닌 polymer의 저분자화를 일으킨다. 또한 phenol산화효소와 lignin peroxidase 및 laccase를 포함하여 분해과정에 필요한 효소뿐만 아니라, phenoxy radical을 형성하거나 또는 리그닌 생성을 방해하는 효소도 필요하다. 이런 효소들로는 cellobiose: quinone oxidoreductase와 NAD(P)H:quinone oxidoreductase가 있다.³⁾ 리그닌의 aromatic ring개열은 lignin peroxidase의 촉매하에 aryl cation radical을 초기 형성하여 물, 분자산소와 반응한 후 ring 개열 및 다른 생성물을 만든다. 백색부후균에 의한 리그닌과 lignin model에 대한 여러가지 탄수화물의 영향을 연구한 결과, lignin peroxidase는 이러한 모든 반응을 촉매하는 것으로 밝혀졌고 백색부후균에 의한 veratric acid의 대사를 연구한 결과, 이 균들은 산을 알콜로 환원시키며(이미 잘 알려진 반응임) 또한 vanillyl compound로 demethyl화 한다는 것이 밝혀졌다. 최근 가장 많은 연구대상인 *Phanerochate chrysosporium* (P.c.로 약칭)의 대사물인 veratryl alcohol의 대사를 연구, 이 대사물은 veratraldehyde로 산화되고 다양한 quinonoid와 ring개열 생성물로 산화되는 것이 보고되었다. 또한 phenolic model compound에 있는 aliphatic C-C개열은 laccase촉매에 의해 phenol류는 O-glycosylate 되어 laccase에 의해 중합이 방해받는다.

따라서 위에 언급한 여러가지 목재분해 미생물 및 이들의 효소에 의한 분해 기작이 좀더 정확히 밝혀진다면 펄프·제지산업에 적용할 생물공학의 범위도 점차 넓어질 것이다.

3. 리그닌 분해균과 효소에 대한 최근 연구 동향

생물학적 처리는 세포 그 자체를 이용하는 미생

물학적인 측면과 유리효소를 이용하는 효소적 측면으로 대별한다. 물론 이 두가지는 연관성이 크다. 그러나 그 응용과 공정은 차이가 있으며 경우에 따라서는 혼용할 수도 있다. 미생물 또는 이들이 생산하는 효소에 의한 리그닌 분해에 관한 연구는 수년전 부터 활발히 진행되어 왔다. 여기에서는 펄프·제지산업에 주로 응용되는 미생물 및 이들의 효소에 대한 최근 연구동향과 그 결과를 소개한다.

3.1 리그닌 분해균

과거 수년동안에 걸쳐 리그닌분해균의 분리 및 동정에 대한 연구가 활발히 진행되어 왔다. 리그닌을 분해하는 미생물로서 토양 bacteria, 특히 *Actinomycetes*(*Nocardia*, *Streptomyces*)가 리그닌을 제한적으로 분해하며, *Aspergillus*, *Fusarium*과 같은 사상균이나 토양균이 크라프트리그닌이나 합성리그닌(DHP)을 분해하는 것으로 알려져 있고 최근 미생물연구에서 또한 백색부후균(오래전 부터 목재의 리그닌을 분해하는 것으로 알려져 있는)의 리그닌대사에 대한 지식이 확보되어 이에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다. 기존의 부후균 가운데 가장 활발한 연구대상인 균은 *Phanerochaete chrysosporium* Burds.(=*Sporotrichum pulverulentum*, *S. pruinatum*, *Chrysosporium lignorum* and *Peniophora*) 등이다. 일반적으로 알려진 리그닌 분해균은 Table 1. 에서 보는 바와 같다.

백색부후균에 의한 목재부후에서는 리그닌의 생분해와 동시에 리그닌으로 보호되는 셀룰로오스나 헤미셀룰로오스의 대사도 일어난다. 그러므로 펄프·제지산업에 적용(예, 바이오표백, 바이오펄핑등)할 수 있는 부후균의 조건은 리그닌을 선택적으로 분해하고 셀룰로오스와 헤미셀룰로오스를 남기면서 중합도를 저하시키지 않아 생산품의 강도를 떨어뜨리지 않는 균이 요구된다. 그러나 이미 알려진 균 중에서는 리그닌 분해력이 약한데다, 공존하는 셀룰로오스를 분해하는 난점이 있다. 따라서 백색부후균이 리그닌을 더욱 선택적으로 분해한다면 펄프·제지산업에 적용할 가능성은 더욱 커질 것이다. 예를들어 기계펄핑에서 상당한 에너지 절약효과를 기대할 수 있다.

Table 1. 리그닌 분해 미생물

Microbe classification and examples(genera)	Lignin substrate used experimentally	Methods used to determine lignin degradation*
Actinomycetes Soil bacteria <i>Nocardia</i> , <i>Streptomyces</i>	synthetic lignin, corn stalks, Douglas-fir phloem	A
Fungi Imperfecti Soil fungi <i>Fusarium</i>	synthetic lignin	A,B
Soft-rot fungi <i>Papulospora</i>	wood blocks	C
Ascomycetes Soft-rot fungi <i>Chaetomium</i>	wood blocks, synthetic lignin, corn stalks	A,C
Pseudo soft-rot fungi** <i>Hypoxylo</i> , <i>Xylaria</i>	wood blocks	C
Basidiomycetes Litter-degrading <i>Collybio</i> , <i>Mycena</i>	forest litter	C
White-rot <i>Coriolus</i> , <i>Phanerochaete</i> , <i>Poria</i>	wood, synthetic lignin	A,C,D
Brown-rot <i>Gloeophyllum</i> , <i>Poria</i>	wood, synthetic lignin	A,C,D

* A : [¹⁴C] lignin CO₂. B : growth on lignin. C : mass balance study based on gravimetric determination of lignin. D : chemical structural studies

** Decay by these and related fungi is slow and exhibits of features of both white-and soft-rot.

최근 리그닌분해균에 대한 연구는 기존의 리그닌분해우수균주에 대한 생리 및 배양상태의 조건 개선 또는 기존 부후균의 돌연변이주를 선발하는 것에 초점을 맞추고 있다. 백색부후균 중에서 셀룰로오스를 거의 공격하지 않는 돌연변이체의 연구는 스톡홀름의 스웨덴 펄프·제지연구소(STFI)가 선구적인 역할을 하고 있다. *P.c.* 균의 hemokaryotic 변종을 선발육종, 돌연변이, 교잡육종을 통하여 아주 효능이 뛰어난 리그닌 분해균을 개발하였지만⁴¹ 이런 균으로 처리한 목재의 기계펄

평에서 실제로 에너지가 크게 절약되지는 않았다. 그러나 sugarcane baggasse에 적용한 결과는 성공적이었다. STFI와 Cuba의 ICIDCA실험실이 공동으로 실험한 결과, STFI가 개발한 cellulose를 분해하지 않는 돌연변이체를 사용하여 cold soda/TMP pulping에 적용한 결과 에너지를 40%까지 줄일 수 있었다는 보고가 있다.⁵⁾ Madison, Wisconsin주의 바이오펄핑 협회는 돌연변이체보다 wild-type균을 이용한 바이오펄핑을 연구하고 있다. 이 협회는 17개 회사와 미국농무성 Forest Products Lab 및 다른 연구실이 공동으로 참여하고 있다. 4주간 균처리한 결과 리그닌 감소율이 3~37%에 달하였고 refining에너지는 50%나 줄일 수 있었다.⁶⁾ 그러나 균처리시간이 너무 길어서 이를 단축시켜 실용화하는 연구를 하고 있다.

3.2 리그닌 분해효소

펄프·제지 분야의 효소이용에 관한 가능성은 최근 2~3년간 매우 높아지고 있다. 효소는 종이 표면size제로 사용하는 전분의 변성에 옛날부터

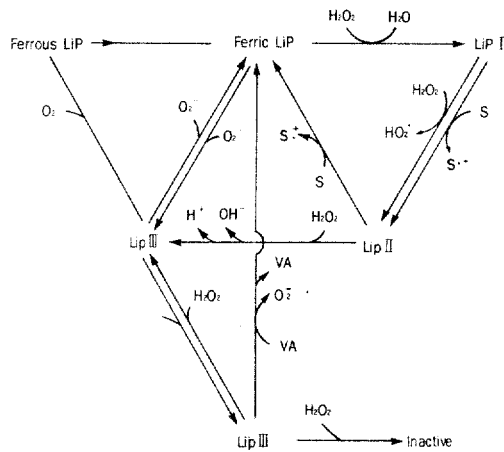


Fig. 2. Lignin peroxidase의 과산화수소에 의한 활성화와 과잉과산화수소에 의한 활성상실 과정

Ferric LiP : 바닥상태의 LiP
 Lip I : 2 전자산화상태
 Lip II : 1 전자산화 상태
 VA : veratryl alcohol

사용되어 왔는데, 펄프·제지 제조공정에도 환경 보호의 관점에서 또는 효소의 특수성을 이용한 수많은 연구가 진행되었다.

예를들어 효소는 virgin pulp의 고해시간을 줄이고, 펄프소섬유화와 보수도를 증가시키는데 사용되어 왔다. 또 회수섬유에서 결합을 증강시키고, 여수도를 증가시키며, 또한 열대활엽수재의 vessel picking을 감소시키고, 용해펄프의 xylan을 선택적으로 제거하여 크라프트펄프의 리그닌을 감소시킨다. 리그닌 분해효소나, 헤미셀룰로오스 분해효소 등이 모두 위의 목적에 부합하는 것으로 알려져 있으나 여전히 많은 효소들이 실험대상이 되고 있다.

산업에서의 cellulase이용은 통상 산업용 효소를 많이 사용하고 있으며 최근 효소에 관한 연구의 관심은 리그닌 분해효소에 많이 집중되어 있다. 특히 백색부후균의 분해효소가 리그닌의 가장 우수한 분해균으로 생각되었기때문에 리그닌 분해효소에 대해서는 백색부후균의 분해효소가 가장 활발하게 연구되고 있다.

1983년 미국의 2개 그룹에 의해 리그닌 분해중인 균체의외액으로 부터, 리그닌 모델화합물을 처리하면 균처리와 같은 분해물을 생성하는 효소가 발견되었다. 이 효소의 중요한 특징은 페놀성 수산기가 에테르결합으로 형성되어 있는 경우 그 unit의 측쇄 α, β 위 사이가 개열된다는 점이다. 후에 lignin peroxidase로 명명된 이 효소는 세계 각국에

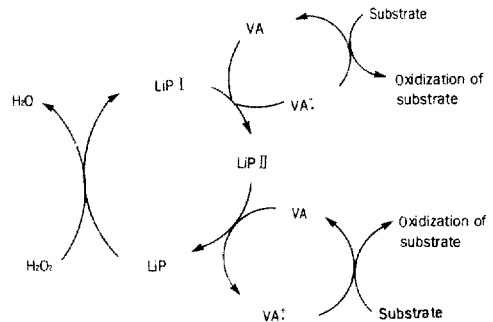


Fig. 3. Veratryl alcohol을 mediator로 한 lignin peroxidase에 의한 기질의 산화기구

VA : veratryl alcohol
 VA·⁺ : veratryl alcohol cation radical

서 이 효소의 생산조건, 모델화합물의 분해기구, 촉매사이클, 분자생물학적 특징등에 대해 다양한 연구가 진행되었다.

Lignin peroxidase에 의한 기질의 분해반응은 lignin peroxidase가 기질로부터 전자를 한개 빼내는 효소반응과 이 반응에 이어 비효소적인 라디칼반응으로 전개되는 것이 밝혀졌다. 최초의 lignin peroxidase에 의한 1개의 전자산화반응에는 전자공여성으로 있는 메톡시기가 많이 치환한 방향족이 반응성이 높고, lignin peroxidase보다 빨리 반응하는 경향이 있다. 그 후의 비 효소적인 반응으로는, 제 1단계 반응으로 생성된 라디칼 양이온이 전이되어가는 과정으로, 그때의 화학구조와 주위의 상태등에 의해 다양한 경과를 갖게된다. lignin peroxidase의 촉매사이클을 Fig. 2. 와 Fig. 3.에 도시했다. 또한 유전자공학에 의한 lignin peroxidase의 증산을 조절하는 연구도 시도되어 현재에는 몇개의 연구실에 의해 lignin peroxidase의 cDNA배열, 아미노산배열 및 계놈의 DNA 배열이 확인되고 있다. *P.c*의 immobilized cell에 의한 lignin peroxidase의 생산을 개량시키는 결과도 보고된 바 있으며, lignin peroxidase의 isoenzyme들이 phosphorylate화 되어있고 몇개의 다른 유전암호를 가지고 있으며, 이러한 특징을 이용하여 lignin peroxidase유전자의 일부가

개선된 lignin peroxidase를 취한 각각의 균을 유전자에서 검색하는 것이 실험되고 있다. 이러한 종류의 기술을 응용했던 예로는 lignin peroxidase유전자를 도입한 박테리아의 유기탄소분해를 실험한 보고가 발표된 바 있다.⁷⁾

Lignin peroxidase의 발견으로부터 조금늦게 균체외액중에 있는 lignin peroxidase와는 별개의 peroxidase가 발견되었다. 이 효소는 망간을 빨리 산화하는 것이기 때문에 Mn-peroxidase 라고 명명되었다. Mn-peroxidase도 lignin peroxidase와 같은 2차대사시에 발견되는데 최근 망간농도가 양쪽 peroxidase의 분비에 관여하고 있다는 사실도 보고되었다. 제안된 Mn-peroxidase의 촉매사이클을 Fig. 4.와 Fig. 5.에 도시하였다.

*Lentinula edodes*에서 Mn-peroxidase 를 분리해냈으며 적당한 chelate체의 존재하에 Mn^{+3} (Mn-peroxidase 활성으로 생성)이 리그닌에 관련된 화합물에서 non-phenolic aromatic ring을 산화시키는 등, 이 효소의 역할은 *in vivo*에서 lignin peroxidase와 같다고 한다. 즉 한개의 전자에 의한 방향족의 산화로 aryl cation radical들이 생성되어 점차 분해반응을 이행한다. 이외에 *T. versicolor*가 Mn-peroxidase isoenzyme을 생산하며 이들은 *P.c*의 isoenzyme과 비슷함을 밝혀냈다.

Lignin peroxidase와 Mn-peroxidase이외에 리그닌 분해에 관련있는 효소는 오래전부터 laccase가 알려져 있다. lignin peroxidase와 Mn-peroxidase는 활성중심에 heme을 갖는 반면 laccase는 활성중심에 구리를 갖는 구리단백질이다. 또 전자

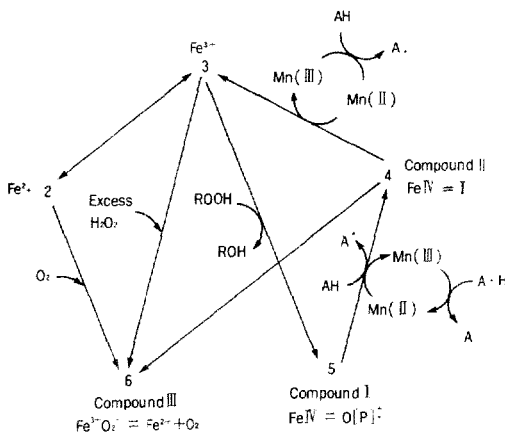


Fig. 4. Mn-peroxidase(MnP)의 과산화물에 의한 활성 화와 과산화수소에 의한 활성상실과정

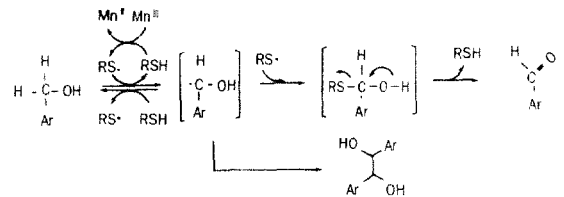


Fig. 5. 망간 및 thiol 유기물(R-SH)을 매개로 한 veratryl alcohol의 산화기구

* 주 : 2가 망간은 Mn-peroxidase에 의해 3가 망간으로 산화된다.

Ar : 방향족

가 과산화수소를 환원해서 기질을 2전자 산화하는 데에 비해 이 효소는 산소를 2분자의 물까지 환원하는 사이에 기질(페놀성화합물, 방향족 아민 등)을 4전자분해 산화한다.⁸⁾ 이 효소에 의한 리그닌 분해반응도 페놀성수산화기를 가진 화합물의 1전자 산화로 시작하는 반응에 의해 분해하는 경우의 기작은 lignin peroxidase 및 Mn-peroxidase 와 거의 같다고 한다.⁹⁾

4. 펄프 · 제지공정에서의 실제 응용

4.1 효소에 의한 Fibrillation

Fibrillation은 refining중에 일어나며 그 결과 섬유 표면적이 증가한다. fibrillation은 섬유 간 결합을 증가시키며, 보통 refining이나 고해에 의해 이루어지는데, cellulase는 fibrillation을 증가시킨다.

1942년대초 펄프섬유의 refining과 수화를 개선할 목적으로 *Aspergillus*종과 *Bacillus*로 부터의 hemicellulase에 대한 특허를 받았으며¹⁰⁾, Bolaski 등은¹¹⁾ 펄프를 분리하고 소섬유화하는데 *Aspergillus niger*로부터의 cellulase의 사용에 대한 특허를 출원하였으며 1968년 백색부후균, *Trametes suaveolens*의 cellulase를 분리해 refining과 고해시간을 줄이는데 대한 특허를 얻었다.¹²⁾ 고해를 촉진하는것 이외에 이효소는 선택적으로 미세섬유분을 제거하여 배수를 촉진시켰다.

이러한 종류의 다른 응용으로서, cellulase를 papermaking machinery의 pit와 모포로 부터 미세섬유분을 제거하는데 이용해 왔다. 그러나 펄프에서의 cellulase 사용에 대한 단점중의 하나가 이들이 섬유를 공격하며 pulp의 질을 떨어뜨릴 수도 있다는 것이다. 특히 cellulase는 셀룰로오스의 중합도를 감소시켜 점도를 떨어뜨린다. 이러한점을 극복하기위해 cellalase가 없는 xylanase가 많이 연구되었으며 화학펄프섬유에서 xylanase의 거동에 대한 연구도 실행되었다. 많은 연구자들은 펄프를 소섬유화하는데 돌연변이균주에서 분리한 효소를 이용했다.

Noe등¹³⁾은 효소처리된 펄프를 구멍한 바 있는데 여수도, 보수도, 열단장과 밀도가 효소처리와 더불어 증가했으나, 점도는 약 30% 감소했고 wet zero span breaking length는 상당히 감소했다. 따라서, 효소처리된 펄프는 고해성을 증진시키고 섬유유연성의 증가로서 결합력이 좋아졌으나 xylan의 손실로서 섬유강도가 감소한다는 것을 알 수있다. Table 2.에서 표백 침엽수 중앙황산펄프의 xylanase에 대한 효과를 알 수 있다.¹⁴⁾

4.2 회수섬유(Recycled fiber)의 효소처리

회수섬유의 배수성을 개량시키기 위해 xylanase와 cellulase가 사용되어 왔다. 회수섬유는 virgin fiber 보다 더 큰 fine fraction을 함유하며 미세섬유는 펄프의 느린 배수성을 유발한다. 초지기의

Table 2. 표백 침엽수 중앙황산펄프에 대한 *Sporotricum pulverulentum*의 xylanase처리 효과

Enzyme treatment	Pulp property					
	SR ^a	WRV ^b (g/g)	DP ^c	LR ^d (km)	LRo ^e (km)	MV ^f (g/cm ³)
None(control)	13	1	1500	0.9	6.6	0.52
Same, refined 51min	57	unch. ^g	unch.	unch.	unch.	unch.
0.02% enz. 20h, 40°C ^h	10	1.36	1400	2.8	10.7	0.61
Same, refined 23min	57	2.2	1400	6.8	11.7	0.93
0.1% enz. 6h, 40°C	21	1.40	1400	3.00	11.0	0.62
Same, refined 18min	55	unch.	unch.	unch.	unch.	unch.

* ^aSR : Schopper-Riegler degree ^bWRV : water retention value unch. : unchanged

^cDP : degree of polymerization ^dLR : length of rupture(tensile)

^eLRo : zero-span breaking ^fMV=volumetric weight

^gAuthors state that properties were not significantly modified.

^hAll reaction mixtures contained 1mM HgCl₂, activity of enzyme was not given.

효율성을 증가시키기 위해서도 빠른 배수가 바람직하며 건조단계는 가능한 빨라야한다.

Fuentes 와 Robert¹⁵⁾는 cellulase와 xylanase로 처리한 회수섬유의 배수성이 18%~24% 증가했음을 발표했다. Maxazyme 2000(Rapidase), Cellulase 250p(Genencor), SP249(Novo社)와 같은 상업효소가 펄프 건조량의 0.07~2%정도 사용되었다. 효소처리로 인해 배수성이 개선되는 반면 강도가 감소하나 후자는 효소처리전에 펄프를 고해함으로써 증가시킬수 있다고 한다. 여러가지의 cellulase와 hemicellulase가 여수도를 증가시키는데 사용되었으나 *Trichoderma reesei*의 상업 cellulase에서 좋은 결과를 얻을 수 있었다.

cellulase는 또한 펄프의 탈리그닌화를 가속화하는데 이용하여 왔다. cellulase(0.05%~0.5%)와 cellobiase(0.005%~0.015%)를 물속에 있는 펄프에 첨가하면 (pH4-7, 60) 섬유의 손상없이 펄프의 탈리그닌화를 가속화시켰음이 보고된바 있다.¹⁶⁾ 그러나 이러한 처리가 점도나 종이강도 성질에 미치는 영향은 아직 밝혀지지 않았다. 최근 Karsila등¹⁷⁾은 기계펄프의 배수성이 cellulase 보다 hemicellulase를 첨가함으로써 증가되었음을 보고했다.

효소를 사용하는 방법 이외에, 혼합 미생물배양액이 회수섬유의 회수성을 촉진시키는데 사용되었다. polyethylene과 aluminum으로 라미네이트되거나 도공지등의 종이 가 특히 회수하기 어려운데 이러한 종이는 70~90%의 양질의 섬유를 갖고 있기때문에 상당히 고려해 볼 만하다. 그러나 효소처리는 아마도 이들의 heterogeneous한 특징때문에 효소의 기질에 잘맞지 않는 것 같다. 특허가 인정된 bioprocess에서 보면, 섬유상에 존재하는 starch, cellulose, carboxylic acid, flotation media, ink 등에서 자랄 수 있는 미생물의 현탁액에 섬유질과 적층재를 도입시키며, 유리된 섬유는 여과 및 부유처리로 분리해낸다.¹⁸⁾

4.3 Vessel picking을 줄이기 위한 cellulase의 처리

최근 몇년간 유칼리와 같은 열대활엽수재가 펄프생산에 많이 이용되고 있다. 이 나무들은 속성

수이며 따라서 칩공급 또한 풍부하다. 그러나 열대 활엽수재의 도관요소는 크고, 단단하며, 이들은 정상적인 고해중에 소섬유화되지 않는다. 그 결과 도관요소가 종이표면에 돌출되곤 한다.

이로이해 열대활엽수재 펄프의 가치가 떨어지므로, 고해처리를 증가시키므로서 도관의 소섬유화와 유연성을 증가시킬 수 있다. 그러나 고해처리는 배수성을 감소시킨다. Honshu Paper Co.¹⁹⁾의 특허에서는 상업효소의 사용이 활엽수재의 유연성을 증진시킨다고 기술했다. 효소처리로서 85%로 vessel picking을 감소시켰고 동시에 인장강도가 4.45에서 5.50으로 증가했으며, 효소처리로 배수시간은 약간 증가했으나 그 차이는 무시할 만 하다고 했다.

4.4 바이오펄핑(Biopulping)

펄핑에 앞서 목재칩에 균처리를 하는것을 "바이오펄핑"이라고 하며 원리는 백색부후균이 목재와 급속히 결합, 리그닌을 분해한다는 데 있다. 즉 미생물이 갖는 리그닌 분해능력을 펄프화의 실제 탈리그닌의 보조수단으로 사용하여 펄프 수율, 강도의 향상, 약품, 에너지의 감소를 목적으로 한다. 이러한 바이오펄핑은 K. Eriksson의 그룹에 의해 바이오기계펄프화 등 체계적으로 연구되었다.

백색부후균은 리그닌을 분해하지만 다당류의 분해도 현저하다. 특히 셀룰로오스의 분해는 펄프 강도에 결정적 영향을 준다. 그 차이점을 개선하기 위해 Eriksson 등은 분생자로의 변이조작에 의해 cellulase 활성이 약해진 균주를 *Sporichium pulverulentum*(P.c의 불완전세대)로 부터 얻어, 자작 및 소나무를 그 변이주로 처리한 후에 기계펄프화한 결과, 야생주는 리그닌, 셀룰로오스를 분해하였지만, 변이주에서는 셀룰로오스 분해는 거의 되지 않고 xylan은 야생주의 경우처럼 분해된다고 발표했다. (Fig. 6.) 즉 변이주는 탄소원으로 xylan등의 헤미셀룰로오스를 이용했으며 글루코오스를 함침한 칩을 사용할 경우, 펄프강도는 향상되고 에너지는 30%정도 감소되었다고 보고했다. 일본의 경우 백색부후균 48종류로 부터 리그닌 분해능이 우수한 10종류를 선택, 이 균들로 포플러 칩을 처리하여 TMP(열기계펄프)의 제조를

시도한 바, 멸균처리만을 한 칩의 TMP수율은 약 85%이고 균처리를 실시하면 수율이 10%이상 저

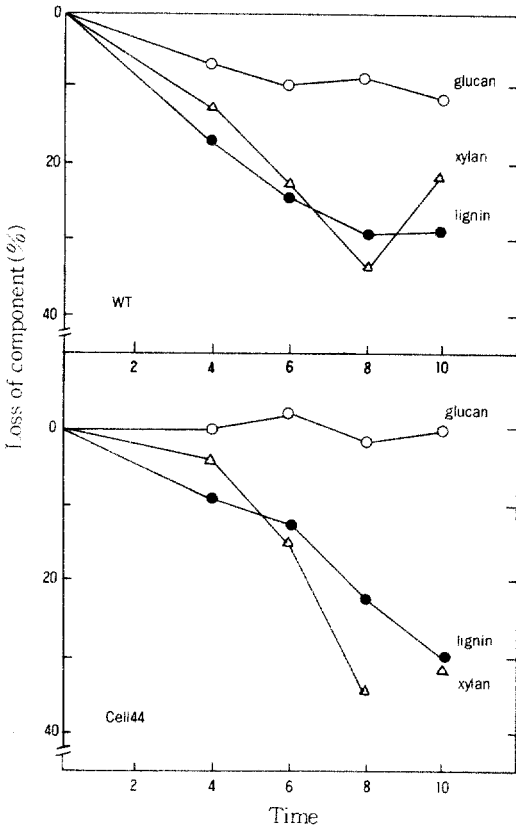


Fig. 6. 너도 밤나무재의 균처리에 따른 구성성분의 변화

WT : *Sportrichum pulverulentum* 균의 wild type.

Cell44 : *Sportrichum pulverulentum* 균에서 얻은 cellulase株.

하한다고 보고했다. 한편 1차해섬으로 얻어진 쇠목기계펄프를 균처리에 적용, 탈리그닌의 축진 및 펄프 특성의 개선, 2차 해섬에너지 감소를 피하는 연구도 행해지고있는데 이는 1차 해섬시에 온도가 온도로 펄프는 멸균상태로 되어있어 필요한 멸균처리가 생략될수 있고, 균이 목재안으로 침투하기 쉬워지므로 리그닌의 분해속도가 빨라진다고 하는 2가지 이점이 있다.²⁰⁾ 그러나 이러한 측면에서도 당분해를 어떻게 억제할 것인가가 문제이다. Yang등^{21,22)}은 *P.c*를 사용하여 TMP를 처리할 때 미리 글루코오스양을 증가시킨 배지와 함께 식균한다면 다당류의 분해를 억제하면서 탈리그닌이 축진할 수 있음을 보고한 바, 배지중에 균처리를 하는점, 첨가해야하는 글루코오스가 수종에 따라

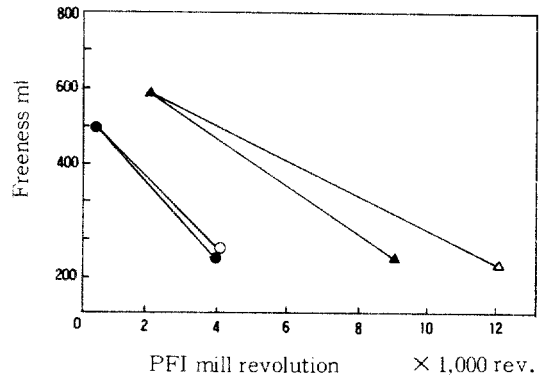


Fig. 7. TMP의 2차해섬에너지에 미치는 IZU-154 균처리 및 과산화수소 표백의 효과

○ : 균처리 TMP, 표백안함

● : 균처리후에 과산화수소로 표백한 TMP

△ : 미처리 TMP, 표백안함

▲ : 미처리 TMP를 과산화수소표백

Table 3. IZU-154균의 처리에 의한 물리적성질의 향상

	Incubation time (weeks)	Freeness (ml)	Burst factor (kP · m ² /g)	Tensile index (N · m/g)	Tear index (mN · m ² /g)	Brightness (%)
Before H ₂ O ₂ bleaching	0	130	0.35	8.7	0.86	40.8
	1	160	0.74	9.6	1.65	37.6
	2	135	1.12	14.6	1.99	38.1
After H ₂ O ₂ bleaching	0	150	0.52	9.6	1.21	64.7
	1	150	1.05	19.8	2.48	65.7
	2	140	1.36	23.7	2.71	67.4

차이가 많이 난다는 점등이 아직 문제로 남아있다. 최근 고베제강(일본)²³⁾그룹은 다당류의 분해가 비교적 작고 탈리그닌능이 우수한 리그닌 분해균 IZU-154를 분리 이를 이용한 바이오기계펄프화의 가능성을 검토하고 있다. 쇄목기계펄프를 같은 균으로 처리해서 수%의 중량감소가 나타난 후 2차 해섬에 제공한 경우 에너지의 대폭적인 감소, 펄프강도의 증가등을 보고했다. (Fig. 7., Table 3.)

바이오 펄핑의 또다른 응용분야는 미생물처리한 칩을 화학펄프화에 제공하는 연구이나 발표된 논문도 대단히 적고 아직까지 바람직한 결과를 얻지 못하고 있다. Johnsrud²⁴⁾들은 리그닌 분해활성은 높으나 cellulase활성은 작은 *P.c*변이주 K-3²⁴⁾을 사용하여 자작나무칩에 처리한 후 크라프트 펄프화 했을 때, 같은 탈리그닌률에서 알칼리소비량은 1%정도 적어지고, 수율은 2%정도 떨어졌으며 펄프점도, 펄프강도는 거의 같지만, 백색도가 약 10% 높아진다고 보고했다. Oriaran²⁶⁾에 의하면 글루코오스를 보충한 포플러재 칩을 *P.c*에 최고 30일 까지 처리하여 크라프트펄프화 한 결과 최고 60%의 수율증가를 확인했으나, 백색도와 인열강도가 감소했다. (Fig. 8)

따라서 미생물 분해를 펄프제조에 이용할 경우,

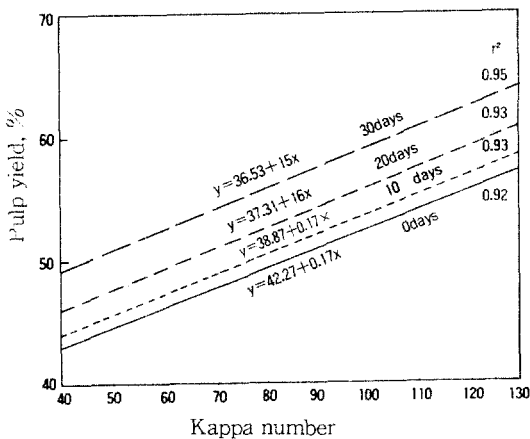


Fig. 8. 칩의 *Phanerochate chrysosporium*에 의한 크라프트펄프화중의 탈리그닌 선택성의 향상
 — 미처리 - - - - - 10일간 균처리
 20일간 균처리 - · - · - 30일간 균처리

대량으로 균일하게 미생물을 처리하기 위한 장치와 배양조건, 처리시간의 단축, 수율의 향상, 잡균의 침입방지등을 고려해야만 한다. 현재의 바이오 펄핑 연구는 두가지 목적에 초점을 맞추고 있다. 첫째 기계펄프화를 위해서 백색후추균으로 전처리를 하는 것이며 이 경우는 미생물을 처리되는 목재에 최적화 시켜 처리시간을 줄이자는 것이다. 둘째 단리된 lignase enzyme을 사용하여 재조합 DNA기술을 통해 효소를 생산해내어 기존의 효소보다도 리그닌 분해활성을 2배로 늘리고자 하는 것이다.

4.5 바이오표백(Biobleaching)

증해후의 미표백 화학 펄프중에는, 강하게 착색한 리그닌이 잔존(수%정도)하고 있기때문에, 상질지등의 고백색도를 요구하는 용도에는, 잔존 리그닌을 제거해서 백색도를 높이는 표백이 필요하다.

현재 표백방법은 염소계 다단표백법이 주류를 이루고 있지만 표백폐액중에는 금속부식성의 염소를 다량 함유하므로, 약품회수공정에서의 농축, 연소 및 표백공정에서의 재순환이용이 곤란하여, 활성오이나 응집침전 처리를 행한후, 다량의 표백 폐액을 계외로 배출하고 있다. 그러나 최근, 폐액중에서 다이옥신류를 비롯한 유기염소화합물이 검출되고, 이 물질들이 변이유발등의 강한 독성을 가지므로, 염소계표백제에 의한 환경오염문제를 크게 야기하고 있다. 이점을 해결하기 위해서는, 염소계표백제의 사용량을 최대로 감소시키고, 유기염소화합물의 배출을 가능한한 제한하거나 감소시킨 표백공정의 개발이 요구된다.

바이오표백에는, 미표백펄프중에 잔존하는 리그닌을 미생물로 분해하고, 펄프백색도를 향상시키도록 하는 것이다. 바이오표백에 의해서만, 백색도 85%이상의 표백펄프를 얻는것은 곤란하다고 해도, 현재 염소-알칼리-차아염소산나트륨-알칼리-이산화염소 등의 염소계다단표백공정의 일부를 바이오공정으로 치환이 가능해지면, 염소계표백제사용량 및 폐수의 현저한 감소를 꾀할 수 있을것이다. 이러한 관점에서, 환경보전형의 표백법으로서 바이오표백이 주목받기시작했다.

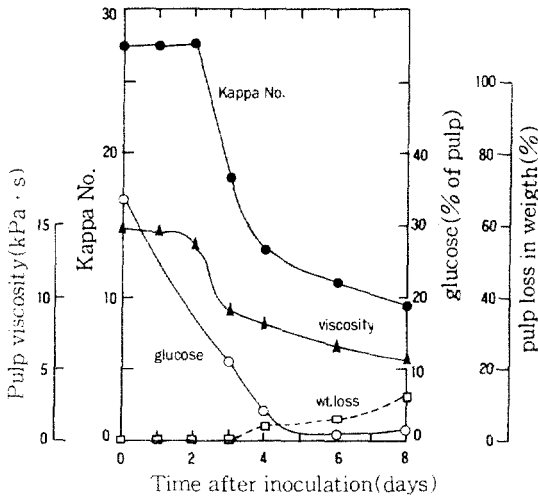


Fig. 9. *Phanerochaete chrysosporium*의 배양에 따른 첨가 글루코오스농도, 크라프트펄프의 중량감소, 점도 및 Kappa가의 변화.

Kirk등은 소나무의 미표백크라프트펄프(UKP)에 다량의 글루코오스(대 펄프33%)를 첨가하고, *P.c*를 접종하여, 1~8일간 처리한 UKP를 수산화나트륨으로 추출, 탈리그닌을, 펄프점도 및 펄프중량감소율(표백수율)을 조사했다.(Fig.9) UKP

의 섬유중에 균사가 신장, 생육하는 배양초기(2일)에는 리그닌은 거의 분해되지 않기 때문에 Kappa가의 저하는 확인되지 않지만, 그 후 급속도로 리그닌분해가 일어나고, 8일후에는 리그닌의 약 60%가 분해되었다. 그러나 셀룰로오스의 분해를 억제하는 목적으로 다량의 글루코오스첨가와 관계없이, 점도는 약 60%, 표백수율은 약 10% 정도로 감소하고, 리그닌의 분해와 더불어 셀룰로오스의 분해도 일어나며, 펄프강도는 상당히 저하했음을 보고했다. 또 *P.c*의 처리만으로 어느정도의 펄프백색도를 얻을수 있는가에 대한 기록은 없지만, 바이오처리한것에 의해 통상 C-E-H-E-D표백으로 표백펄프를 얻는데 필요한 유효염소량을 27%감소시킬 수 있다는 결과도 있다.

한 편, Tran등도 *P.c*에 의해 활엽수UKP의 리그닌이 분해됨을 확인했다. 이들은, 낮은 펄프농도(약1.4%)에 글루코오스를 33%(대 UKP)첨가하는 Kirk등의 조건과 비슷한 정치배양을 행했지만, 최적조건(pH : 3.5, 온도 38℃, 100%산소로 배지와 산소의 접촉면적을 크게한다)에서는, 10일간의 균처리로 UKP리그닌의 56.5%가 분해된다고 보고하고있다. (펄프백색도에 관해서는 불명)

Table 4. 미표백크라프트펄프의 백색도, 리그닌, 셀룰로오스에 대한 9개 균주의 효과

	Control (pulp only)	Strain #052	Strain #170	Strain #358	Strain #383	Strain #405	Strain #406	Strain #431	Strain #432	Strain #434
Before 2% extraction										
Brightness, %ISO	33.5	48.0	35.8	34.4	35.7	35.8	35.9	35.5	35.4	36.0
Kappa number	11.6	7.9	12	12	10.9	10.2	11.7	12.4	12.4	12.4
Viscosity, mPa · s	17	11.2	15.9	16	13.5	10.9	17.8	16.7	16.8	15.1
Klason lignin, %	1.1	0.7	1.4	1.6	1.1	1.4	1.3	1.6	1.6	2.0
UV lignin, %	0.68	0.63	0.69	0.67	0.58	0.61	0.63	0.63	0.67	0.49
After 2% extraction										
Brightness, %ISO	34.3	49.5	35.9	34.8	35.6	37.0	35.3	34.6	34.9	34.8
Kappa number	10.9	6.5	11.2	12.1	10.4	9.4	11.4	11.7	11.3	11.4
Viscosity, mPa · S	15.3	10.4	14.6	14.4	13.4	10.9	16.8	15.8	15.2	14.4
Klason lignin, %	1.0	0.5	1.0	1.2	1.0	1.1	1.1	1.3	1.3	1.6
UV lignin, %	0.70	0.51	0.70	0.67	0.65	0.58	0.69	0.69	0.79	0.86

The following strains were screened : No.52 *Coriolus versicolor*(ATCC20869), No.170 *Phellinus pini*, No.358 *Pleurotus eryngii*, No.383 *Phanerochaete chrysosporium*(ATCC24725), No.405 *Pleurotus sajor-caju*, No.406 *Lentinus edodes*, No.431 (Cellulase-less mutant) *P. charysposporium*, No.432 (Cellulase-less mutant) *P. chrysosporium*, No.434 *Aureobasidium pullulans*.

Table 5. 펄프의 생물학적, 화학적처리의 혼용 효과

초기 brightness : 32.7% ISO

	Control pulps		<i>C.versicolor</i> treated pulp (FDED)
	(CEDED)	(DED)	
Brightness(5day), % ISO	—	—	50.1
Extraction brightness, %ISO	46.9	—	—
First D stage			
Brightness, % ISO	81.7	51.9	62.7
Kappa number	0.9	—	4.3
Viscosity, mPa · s	11.8	—	13.2
Second D stage			
Brightness, % ISO	88.1	71.9	82.3
Viscosity, mPa · s	11.2	—	12.6

Paice등을 중심으로하는 그룹도 바이오표백에 적극적으로 참여하고있다. 이들은, 글루코오스의 영양원을 함유하는 활엽수UKP(Kappa가 11.6)에 9개균주의 백색부후균을 접종한 후, 펄프농도 약 1.5%에 통기와 교반을 행하면서 5일간 배양한 결과, *Coriolus versicolor*가 가장 탈리그닌능력이 우수하고(Kappa가 약 30%감소) 백색도를 약 15 point 향상시킬 수 있음을 발견하였다. (Table 4.)

그러나 *C.v*로 처리(F)한 후, D-E-D표백(대조구의 C-E-D-E-D표백과 비교해서, 전유효염소량은 38%감소)을 행한경우, 백색도는 대조구보다 약 6 point 낮아졌고(Table 5.), 기대할수 있는 전유효염소량의 감소율은 약 38% 정도라는 결과가 나타났다(표백율에 대해서는 불명). 또 이들은 침엽수 UKP에도 적용했는데, 펄프에 대하여 80%의 다량의 글루코오스를 첨가하여 4일간의 처리를 해도, 균처리직후에는 거의 펄프의 백색화가 보이지 않다가, 균처리후에 알칼리처리(수산화 나트륨 첨가량 : 펄프 2%, 펄프농도 : 2%, 120℃, 15분)를 행하면, 리그닌의 용출이 일어나므로 표백성도 향상되었다(Fig. 10). 그러나 표백펄프를 얻는데 필요한 유효염소량을 균처리에 의해서 어느정도 감소시킬수 있는지에 관해서는 전혀 언급이 없었다.

이상 서술한 바와 같이, 기존의 균주에 의한 바이오표백의 결과 염소계표백제의 감소효과는 크지 않으며, 그밖에 균처리시에 다량의 글루코오스

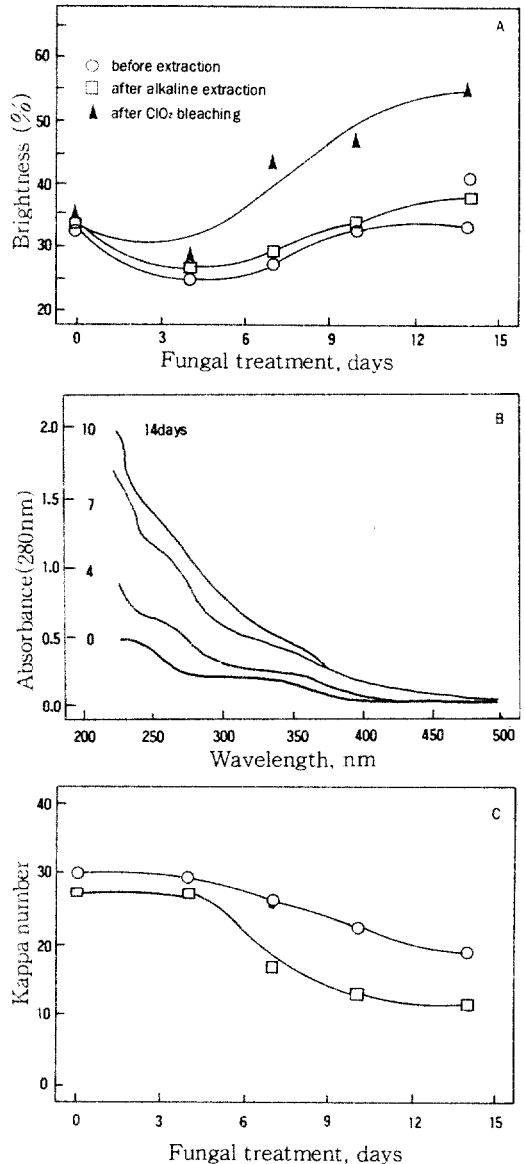


Fig. 10. *T. versicolor* 처리에 따른 침엽수 크라프트 펄프의 경시적 탈리그닌 효과.

- A. 알칼리추출 및 ClO₂ 표백 전후의 백색도.
- B. 알칼리추출물의 spectra
- C. 알칼리추출 전후의 Kappa가

첨가를 필요로 하고, 장기간의 균처리를 저 펄프농도로 하기위해 처리용량이 커지는 등의 실용상

Table 6. 너도밤나무 KP의 표백조건과 광학적 성질

Bleaching sequence	Dosage(% on pulp)					Brightness		PC number	
	C	E ₁	D ₁	E ₂	D ₂	As effective chlorine	Before aging* ¹		Affer aging* ²
C E D E D (Conventional process)	5.0	3.6	0.8	0.2	0.3	7.89	88.8	84.2	0.78
F C E D (Biobleaching process)	1.4	0.8	0.3	-	-	2.19	88.1	85.3	0.46
	(Δ72%) (Δ70%) (Δ73%)			(Δ72%)					

*¹ : Beech KP was treated for 5 days and kappa number was decreased from 20.9 to 8.5 (Δ kappa=59%).

*² : at 105°C for 60 min.

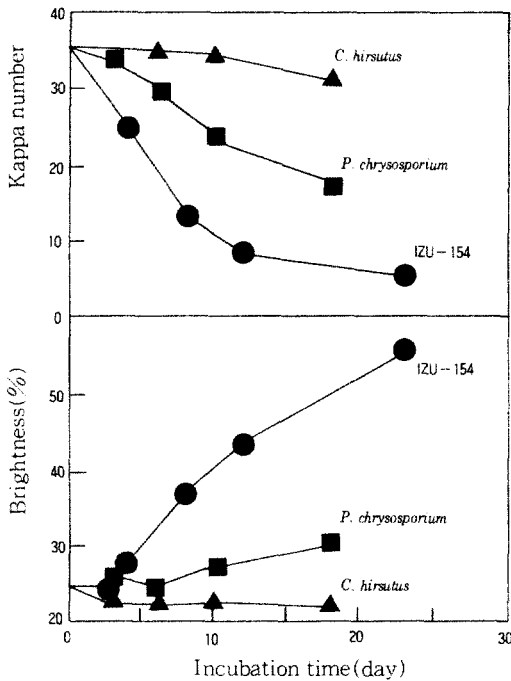


Fig. 11. 백색부후균에 의한 소나무 미표백 크라프트 펄프의 증백 및 탈리그닌효과.

의 난점이 있다. 이러한 난점을 해결하기 위해 일본의 Tomoaki²⁷⁾ 등은 IZU-154 균주를 이용하여 실험한 결과 표백약품량이 크게 감소하며 (Table 6.) 타 균에 비교해 현저한 표백효과를 얻을 수 있었다 (Fig. 11). 또 염소계표백제를 완전히 사용하지 않는 비염소계표백공정의 개발에 대한 연구를 진행한 바, 활엽수 미표백펄프를 산소표백한 후에

알칼리 및 과산화수소 처리를 하는 비염소계표백공정을 시도하여 과산화수소 2~4% 첨가로 백색도 84~87%의 표백펄프를 얻었다.

이 외에 Viikari²⁸⁾ 등은 hemicellulase로 크라프트 펄프 중의 헤미셀룰로오스를 분해한다면, 펄프를 표백하기 쉬워지고, 활엽수 및 침엽수 크라프트 펄프의 과산화수소 표백의 전처리에 hemicellulase 처리를 조합하면 탈리그닌에 효과가 있다는 결과를 관찰했다. 그의 다수의 연구의 진전에 따라 hemicellulase 표백은 이외에도 펄프화공정에 있어서 생물학적 방법으로 접근할 수 있는 수지장해의 개선 등 최근 현실적인 기대를 모으고 있다.

4.6 폐수처리

펄프·제지산업의 폐수처리는 이미 미생물학적 기술에 다소 의존하고 있으나, 강화되고 있는 수질오염규제와 환경보전에 부응하기 위해서라도 펄프·제지산업 폐수의 독성유발 및 발색물질들을 점차적으로 감소할 필요가 있다. 바이오표백에서 이미 언급한 바와 같이 독성폐액처리문제는 펄핑과 표백에 상당한 관련이 있는 바, 대부분 펄핑과 표백에 쓰인 약품으로 인한 것이며 특히 강한 발색유발원인 염소계표백제에 의한 문제가 크다. 현재 효과적인 탈색방법으로 알려진 처리과정은 한외여과와 탄소흡착, 생석회투여 침전 등이지만 처리과정의 비용이 꽤 높은 편이다.

이 분야의 생물공학의 접근은 크라프트펄프 표백약품들의 유출수들을 탈색화하는 데 있다. 색은

고분자의 리그닌 분해 산물에 기인하며 이러한 발색물질들은 현재 폐수시설에 이용되고 있는 미생물에 저항성을 띤다. 따라서 미생물을 자연집단에서 분리해 내어, 유전공학을 통해 변이주 및 선발을 거쳐 산업폐수등을 특이적으로 분해시키도록 하는 연구가 진행되는 것이 바람직하다. 1970년대 ^{14}C 로 표시한 KP 리그닌을 염소화하고 알칼리처리한 후의 표백폐수가 P.c균에 의해 급속히 분해된다는 사실이 입증되면서 크라프트표백폐액이 급속히 탈색화 될 수 있음을 보여주는 연구가 진행되었다.^{29,30)} 미국 농무성 Forest Products Lab. 과 North Carolina State University 공동으로 고도로 색깔을 띤 제1단 표백폐수를 탈색하기 위해 백색부후균의 이용을 시도했다.³¹⁾ 특히 회전 원반식의 반응기중에서 알칼리 추출한 폐수를 P.c로 처리한 결과 대폭적인 탈색, 유기염소의 감소를 보였다고 발표했다. 이와 비슷한 연구가 Tokyo University에서 실시되었으며³²⁾, Canada의 펄프·제지연구소도 이러한 실험을 진행하였다.³¹⁾

따라서 최근의 연구동향은 rotating biological contactor에 근거한 bench-scale 평가에 초점을 두고 있고 또한 탈색화, BOD 및 COD 감소 뿐만 아니라 독성의 제거에 대한 연구가 진행되고 있다.

5. 결 론

생물공학은 미래의 실현가능한 잠재력으로 인해 많은 주목을 받고 있으며, 이러한 잠재력들은 생물의학 분야에서 현실화되고 있고(human insulin의 생산과 bacterial cells에서 human growth hormone을 생산하는 등) 더욱 최근에는 洗劑와 같은 저 가격품의 공정에서도 실현되고 있다. 생물공학의 장점은 비생물학적인 방법으로는 실현 불가능한 공정과 생산품을 제공하며, 반응특이성을 증가시키고, 환경적으로 덜 해로운 공정을 제공, 결국 비용절감을 가져온다는 점이다.

생물공학은 펄프·제지산업의 여러 분야에서 응용할 수 있는 가능성이 있다. 펄프·제지산업에 생물공학을 응용하기 위한 기초적인 연구노력은 전세계 많은 실험실에서 행해지고 있다.

이 산업분야에서 가장 주목받는 것은 더 낮은

비용의 공정개발과 무공해 공정에 의한 상품의 생산이며 이러한 점에서 상업적으로 실현되어가는 초기단계에 와 있다.

펄프·제지공업은 목재로부터 종이를 만들기 위해 막대한 에너지와 많은 화학약품을 사용하고 있다. 한편 목재는 지구상에 존재하는 가장 양이 많은 천연물로서 많은 미생물과 이들이 생산하는 효소의 기질이 되고 있다. 자연계에서의 목재 분해에는 시간이 많이 걸리는 것이 사실이나 온화한 조건에서 미생물과 이들이 생산하는 효소의 촉매에 의해 무공해적으로 진행된다.

따라서 펄프·제지산업에서 생물공학의 응용이 더 빨리 실현되기 위해서는 공정에 이용되는 미생물과 이들 효소의 구명 및 분해의 생화학적 기작을 이해하여 유전공학기술에 의한 미생물 및 효소의 분리와 개량을 도모하고 산업의 기술진들과 생물공학연구자들사이의 활발한 정보교환을 바탕으로 실지 응용을 수행하기 위한 기본계획 아래 체계적인 연구노력이 계속해서 진행되어야 할 것이다.

참 고 문 헌

1. Ander P. and K. E. Eriksson 1978. Lignin degradation and utilization by microorganism : Progress in Industrial, Microbiol. Ed. M. J. Bull. Elsevier, Amsterdam 14 : 1-58.
2. Tien M. and T. K. Kirk 1983. Lignin-degrading enzyme from the hymenomycete *Phanerochaete chrysosporium* Burds. *Science*, 221 : 661-663.
3. Westermarck U. and K. E. Eriksson 1974a. Carbohydrate-dependent enzymic quinone reduction during lignin degradation. *Acta Chem.* B28 : 204-208.
———, 1974b. Cellobiose:Quinone oxidoreductase, a new wood-degrading enzyme from white rot fungi. *Acta Chem.* B28 : 209-214.
4. Johnsrud S. C. and K. E. Eriksson 1985. Cross-breeding of selected and mutated

- homokaryotic strains of *Phanerochaete chrysosporium* K-3 : New cellulase deficient strains with increased ability to degrade lignin. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 21 : 320-327
5. Johnsrud S. C., N. Fernande, P. Lopez, I. Gutierrez, A. Saez and K. E. Eriksson 1978. Properties of fungal preterated high yield bagasse pulps. *Nordic Pulp Pap. Res. J. Special Issue Bone Steenberg.* 75 : 47-52
 6. Leatham G. F., G. G. Myers, T. H. Wegner and R. A. Blanchette 1989. Energy savings in biomechanical pulping. In *Biotechnology in Pulp and Paper Manufacture*. Stoneham : Butterworths MA.
 7. Wang Z., T. Crawford, T. Magnuson, B. Bleakley and G. Hertel 1991. *Can. J. Microbiol.* 37 : 287
 8. Malmstrom B., L. Andresson and B. Reinhammar 1975. in the *Enzyme*. Ed. Boyer P.D. Academic Press, New York 12 : 507-579
 9. Bourbonnais and M. Paice 1990. *FEBS Lett.* 267 : 99-102
 10. Diehm R. A. 1942. U. S. Patent 2,289,307
 11. Bolaski W., A. Gallatin and J. C. Gallatin 1959. U. S. Patent 3,041,246
 12. Yerkes W. K. 1968. U. S. Patent 3,406,089
 13. Noe P., J. Chevalier and J. Comtat 1986. *J. Wood Chem. Technol.* 6(2) : 167-184
 14. Koshifima T., T. Watanabe and T. Yaku 1989. In *Lignin Properties and Materials*. Eds. Glasser W. G., Sarkanen S. ACS Symp. Ser. 397. American Chemical Society, Washington DC:11-28
 15. Fuentes J. L. and M. Robert 1988. European Patent 262040
 16. Nomura Y. 1985. Japanese Patent Application 126,395/85
 17. Karsila S. I, Kruss and O. Puuppo 1990. European Patent 351655 A 900124 9004
 18. Doddema H. J. and F. O. J. Vander Meulen Bosma 1988. European Patent Application O 291 142
 19. Uchimoto I., K. Endo and Y. Yamagishi 1988. Japanese Patent 135,597/88
 20. Eriksson K. 1976. Proceedings of a symposium "Biological Delignification. Present Status and Future Direction" sponsored by Weyerhaeuser Company : 11
 21. Yang H., M. Effland and T. Kirk 1980. *Biotechnol. Bioeng.* 22 : 65-77
 22. Var-Lev S., T. Kirk and H. M. Chang 1982. *Tappi.* 65(10) : 111-113.
 23. 西田友昭. 1991. 第58回 紙 パルプ 研究発表會 要旨集. : 48-51
 24. Johnsrud S. and K. Eriksson 1986. Proeccdings of 3rd International Symposium of Biotechnology in the Pulp and Paper Industry. Stockholm : 53
 25. Johnsrud S. and K. Eriksson 1985. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 21 : 320-327
 26. Oriaran T., P. Labosky and P. Blanken-horn 1990. *Tappi.* 73(7) : 147-152
 27. Tomoaki N. 1992. Lignin biodegradation and biobleaching of pulp by white-rotting fungus. *Mokuzai Gakkaishi.* 38(9) : 811-819
 28. Viikari L., M. Ranua, A. Kantelinen, J. Sundquist and M. Linko 1986. Proceeding of 3rd International Symposium on Biotechnolohy in the Pulp and Paper Industry. Stockholm. : 67-69
 29. Eaton D., H. M. Chang and T. K. Kirk 1980. *Tappi.* 63 : 103-106
 30. Proc. Tappi Environmental Conference. 1979. Houston Texas. : 25-27
 31. Campbell A. G., E. D. Gerrard, T. W. Joyce, H. M. Chang and T. K. Kirk 1982. Research and Development Conference Proceedings TAPPI PRESS, Atlanta Ga. : 209
 32. Chang H. M., T. Joyce, Y. Matsumoto, C.

- Yin B. Vasudevan, C. Boechat and T. Kirk 1986. Proceedings of 3rd International Conference on "Biotechnology in the Pulp and Paper Industry" Stockholm. : 120-123
33. Fukuzumi T., A. Nishida, K. Aoshima and K. Minami 1977. *Mokuzai Gakkaishi* 23(6) : 290
34. Livernoche D., L. Jurasek, M. Desrochers and I. A. Veliky 1981. *Biotechnol. Letter.* 3. (12) : 701
35. Ericksson K. E. L. 1990. Biotechnology in the pulp and paper industry *Wood Sci. & Techn.* 24 : 79-101

辛東韶, 林奇杓, 趙南爽, 趙炳默 外共著

林產化學

鄉文社

中野準三, 住本昌之, 樋口隆昌, 石津敦 共著

趙南爽, 李鍾潤, 尹炳虎, 黃炳浩 共譯

木材化學

嶺南大學校 出版部