

소나무재의 1차조직과 2차조직 세포벽 중의 셀룰로오스 구조*¹

김남훈*² · 이기영*²

Cellulose Structures of Primary and Secondary Tissues in *Pinus densiflora* S. et Z. *¹

Nam-Hun Kim*² · Kee-Young Lee*²

요 약

소나무(*Pinus densiflora*)재의 1차조직과 2차조직의 조직구조, 미세구조 및 머서화(mercerization)에 의한 셀룰로오스의 결정구조 변화를 검토하였다.

그 결과, 1차조직의 세포는 원형에 가깝고 내강이 크며 배열이 무질서한 데 비하여, 2차조직의 세포는 장방형이고 비교적 규칙적인 배열을 갖고 있다. 섬유장은 1차조직 200~250 μm , 2차조직 1,500~1,600 μm 였으며, 내강경은 1차조직 40~50 μm , 2차조직 10~20 μm 였다. 그리고 1차조직과 1차방사조직은 2차조직의 세포에 비해 미목화된 세포가 많았다.

1차조직과 2차조직에서 셀룰로오스 결정의 면간격과 미결정 폭의 차이는 없었으나 상대결정화도는 각각 23%와 35%로 다소 차이가 있었다. 배향성에 있어서 1차조직의 미결정은 무배향을 나타냈으나 2차조직의 미결정은 섬유축에 20~30°의 배향성을 나타냈다.

머서화 과정 동안에 1차조직 셀룰로오스 결정은 셀룰로오스 II로 변화되었지만 2차조직의 셀룰로오스 결정은 거의 변화되지 않았다. 따라서 양 조직간의 결정변태의 차이는 목화 정도의 차이에 의한 리그닌의 영향으로 생각되었다.

ABSTRACT

The microscopic characteristics and cellulose structures of primary and secondary tissues in *Pinus*

*1 접수 2000년 10월 16일, 채택 2001년 3월 8일

본 연구는 1997년도 학술진흥재단 대학부설연구소 과제 연구비에 의해 수행되었음.

*2 강원대학교 산림과학대학 College of Forest Sciences, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea

*3 진주산업대학교 임산공학과 Department of Forest Products, Chinju National University, Chinju 660-758, Korea

densiflora S. et Z. were examined. Cells of primary tissue in cross section showed an irregular arrangement and round shape. Fiber lengths were 200 to 250 μ m in primary tissue, and 1,500 to 1,600 μ m in secondary tissue. Cell diameters in primary tissue were larger than those in secondary tissue; 40 to 50 μ m in former and 10 to 20 μ m in latter. Crystallite width and d-spacing of (200) in both tissues did not show any significant differences. However, crystallinity indices by Segal's method showed significant differences as 23% in primary tissue and 35% in secondary tissue. In the orientation of cellulose microfibril, primary tissues had a random pattern, whereas, secondary tissues presented an oriented pattern with 20 to 30 degree. The cellulose crystalline of primary tissue was easily transformed into cellulose II by mercerization, but that of secondary tissue hardly transformed. It is considered that the difference of crystal transformation in both tissues could be caused by the difference of lignification.

Keywords : cellulose I, cellulose II, crystallite width, crystallinity, mercerization, *Pinus densiflora*, primary tissue, secondary tissue

1. 서론

최근의 셀룰로오스의 결정구조에 관한 중요한 연구 테마의 하나는 원료에 따른 셀룰로오스 결정구조의 변이성에 관한 연구이다. 즉, Atalla & Vander Hart(1984)가 ¹³C-NMR을 이용하여 천연셀룰로오스중에서도 *Valonia*, *Bacteria*의 결정형태(I_c)와 cotton, ramie, 목재셀룰로오스의 결정형태(I_b)가 서로 다르다고 최초로 보고한 이래 Sugiyama(1989)는 X선 회절법과 전자선 회절법을 이용하여 *Valonia cellulose*는 삼사정계(I_a)이고 Tunicin과 목재셀룰로오스는 단사정계(I_b)라고 보고하여 Atalla 등의 연구결과를 증명하였다.

셀룰로오스 결정구조의 변이성과 관련하여 여러 가지 셀룰로오스 재료의 격자정수를 조사하여 그 변이성을 나타낸 Wellard(1954)의 고전적인 연구를 비롯하여, Chanzy(1979)는 장미의 배양세포 1차벽 셀룰로오스는 셀룰로오스 IV라고 하였고, Nishimura 등(1982)은 Red Meranti재의 셀룰로오스도 셀룰로오스 IV라고 보고하였다. 또한 Okano & Koyanagi(1986)는 목재셀룰로오스를 비롯한 여러 종류의 생물에서 유래하는 셀룰로오스의 결정구조를 통계적으로 조사하여 격자상수 γ 가 종에 따라 다르며 그것은

생물진화와 관련되고 있다고 추론하였다. 특히 목재셀룰로오스에서는 활엽수와 침엽수의 차이에 주목하여 진화한 활엽수의 γ 가 작다고 하였다.

최근 Sugiyama 등(1991)은 해조류인 *Microdictyon*의 단일 microfibril에 연속적으로 미소부 전자선 회절실험을 실시하여 일본의 microfibril에 단사정과 삼사정의 2상이 동시에 존재하는 것을 증명하였는데, 그들은 삼사정은 1본쇄, 단사정은 2본쇄이고 1본쇄의 단위포가 존재하는 사실로부터 단일의 microfibril은 분자쇄의 극성이 모두 같은 평행쇄구조인 것을 밝히므로써 셀룰로오스 구조 연구의 새로운 장을 열었다. 또한 Kataoka & Kondo(1996)는 목재의 신생부 세포를 FTIR 현미분광법으로 연구하여 1차벽 cellulose는 I_c 가 풍부하고, 2차벽 cellulose는 I_b 가 풍부하며, 1차벽의 셀룰로오스의 상대결정화도가 2차벽보다 높다고 하는 결과를 발표하여 셀룰로오스 연구자들의 상당한 관심을 끌고 있다.

동일 목재 내에서도 서로 다른 분열조직에 의해 생성되는 조직, 즉 정단 분열조직에서 유래하는 1차조직과 유관속 형성층에서 유래하는 2차조직간의 cellulose의 미세구조에도 차이가 있는지의 여부는 원료에 따른 cellulose의 결정구조의 차이를 밝히는 데 상당히 흥미로운 테마로 생각된다. 따라서, 본 실험에서는

목재 cellulose의 결정구조를 규명하기 위한 기초지식을 얻기 위하여 광학현미경과 주사전자현미경으로 그 기본구조를 관찰하고 X선 회절법을 이용하여 상대결정화도, 결정의 폭, 주요 면의 면간격, 결정의 배향성, 머서화에 의한 결정의 변화에 대하여 조사하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 재료

강원대학교 구내림에서 생장한 소나무(*Pinus densiflora* S. et Z.)의 5~7년생의 가지부분을 시료로 이용하였다.

2.2 방법

2.2.1 광학현미경 및 SEM 관찰

상법(일본목재학회 · 물리 · 공학편집위원회, 1985; 古野 · 澤邊, 1994)에 의하여 시료를 제작하여 관찰하였다. 섬유장 및 세포직경(2차조직의 세포직경은 조재부 가도관의 방사방향 직경)은 각 100개씩 측정하여 평균하였다.

2.2.2 X선 회절

X선 회절용 시료는 다음과 같이 제작하였다. 1차조직(pith 포함, 이하 1차조직이라함)은 실체현미경(ORION OSM-1)하에서 핀셋과 해부용 칼을 이용하여 2차조직과 분리하였으며 1차조직과 2차조직 시료는 모두 100kg/cm²의 압력을 가하여 10(T)×20(L)×1(R)mm의 치수로 제작하였다. 1차조직 및 2차조직과 비교하기 위하여 45년생 소나무재의 40연륜부위에서 만재부 시료(성숙재)를 동일한 치수로 제작하였다. X선 회절장치는 Laue 카메라가 부착된 Rigaku DMAX 2100V를 사용하였으며, X선 발생의 대음극은 Cu를 이용하였다. 입사 X선은 니켈필터(Ni filter)로 K_α 선을 제거해 단색화한 CuK_α 선(λ=0.1542nm)을

이용하였고 X선 회절도의 촬영조건은 카메라 길이 3~5cm, 전압 40kV, 전류 30mA였다. 시료에는 X선 회절 결과를 해석하기 위한 표준물질로서 NaF(d=0.2319nm) 분말을 부착시켜 X선 회절도를 촬영하였다.

X선 회절사진과 강도곡선으로 이 · 김(1992)의 방법으로 면간격, 상대결정화도, 미결정의 배향성, 결정의 변화 등을 측정하였다.

2.2.3 머서화(Mergerization)

X선 회절실험이 끝난 1차조직과 2차조직 시료를 3.5N 및 8.0N의 NaOH 수용액에 10일간 침적시킨 후 수세 및 건조하여 앞서와 같은 방법으로 X선 회절실험을 실시하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 구성세포의 특성

Fig. 1은 소나무재의 광학현미경 사진이다. 횡단면 상에서 1차조직은 2차조직에 비해 세포가 둥글고 세포 내강의 직경이 크며 또한 2차조직은 세포배열이 조밀하고 규칙성이 있는 데 비해 1차조직은 세포간극이 많고 무질서한 배열을 나타냈다. 그리고 이중염색한 결과 1차조직은 light green에 염색된 세포가 많았고 2차조직은 safranin에 염색된 부분이 많았다. 또한 방사조직과 수직수지구 주위의 에피델리얼 세포 역시 light green 염색이 되어 있는 것을 알 수 있었다. 따라서 1차조직, 1차방사조직 및 에피델리얼 세포는 2차조직에 비해 목화의 정도가 낮거나 느리게 진행되는 것으로 생각된다.

섬유장을 측정한 결과 1차조직은 200~250μm, 2차조직은 1,500~1,600μm로 2차조직 세포가 7배 정도 길었다. 또한 세포의 내강경은 1차조직 40~50μm, 2차조직 10~20μm로 그 차이가 크게 나타났다. 이들의 결과를 Table 1에 나타냈다.

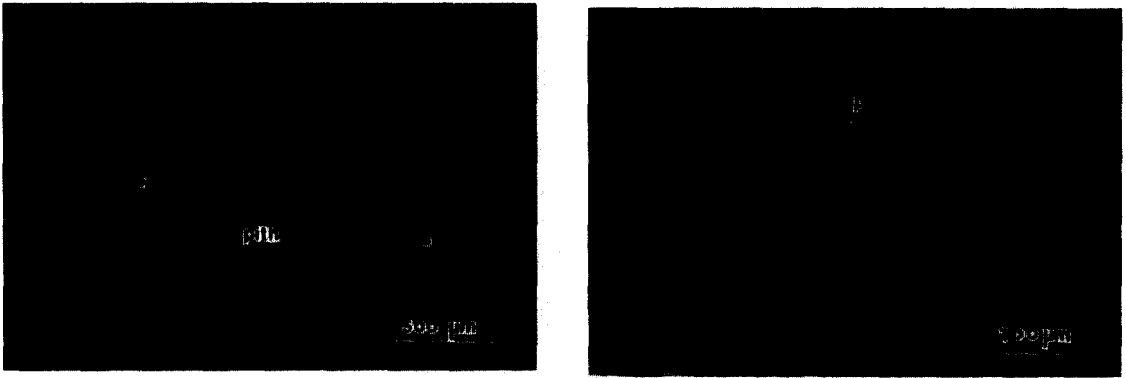


Fig. 1. Optical micrographs of *Pinus densiflora* S. et Z.
Note: P and S of photographs indicate primary and secondary tissues, respectively.

Table 1. Characteristics of the primary and the secondary tissues of *Pinus densiflora*.

d-Spacing (nm)	Primary tissue		Secondary tissue	
	(200)	(004)	(200)	(004)
Crystallinity Index (%)	23.0±5.0		35.0±4.5	
Lateral crystallite size (nm)	2.0±0.35		2.1±0.30	
Crystallites orientation	random		30°±5.0	
Shape of cells on cross section	round		rectangular	
Cell diameter (μm)	46.0±5.5		15.0±6.0	
Cell length (μm)	220.0±35.0		1550±50.0	
Crystal form of cellulose after alkali treatment	cellulose II		cellulose I	

3.2 미세구조

Fig. 2는 소나무재의 성숙재, 1차조직 및 2차조직의 X선 회절도이다. 이 회절도들은 공히 천연셀룰로오스 (cellulose I)임을 보여 주고 있으며, 측정된 셀룰로오스 결정의 면간격, 상대결정화도, 미결정의 폭 및 미결정의 배향도의 결과를 종합해 Table 1에 나타냈다.

목재의 X선 회절도에서 대표적으로 나타나는 회절점은 적도선의 (110), (110) 및 (200), 자오선의 (002)와 (004)면의 회절점이다. 그러나 본 실험의 1차조직과 2차조직의 X선 회절도에서는 저결정화도, 리그닌, 헤미셀룰로오스에 의한 background 형성 등의 영향에 의해 각 회절점이 명확히 나타나지 않기 때문에 회

절강도곡선의 분리가 어려운 (110)면과 (110)면은 제외하고 비교적 회절강도곡선이 명확한 (200)면과 (004)면의 회절점의 면간격을 측정했다.

그 결과 1차조직과 2차조직에서 (200)면의 면간격은 약 0.40nm, (004)면의 그것은 약 0.256nm로 양 조직간의 차는 없었다.

셀룰로오스의 상대결정화도는 2상설의 입장에서 볼 때 결정영역과 비결정영역의 비이다. 본 실험에서 구한 1차조직과 2차조직의 상대결정화도는 Table 1에 나타낸 것과 같이 각각 23%와 35%를 보여 주고 있다. 목재의 상대결정화도는 연구자와 측정법에 따라 차이가 있지만 X선 회절법에 의해 30~70%의 넓은 분포를 갖는 결과가 보고되어 있다. Revol 등(1987)은

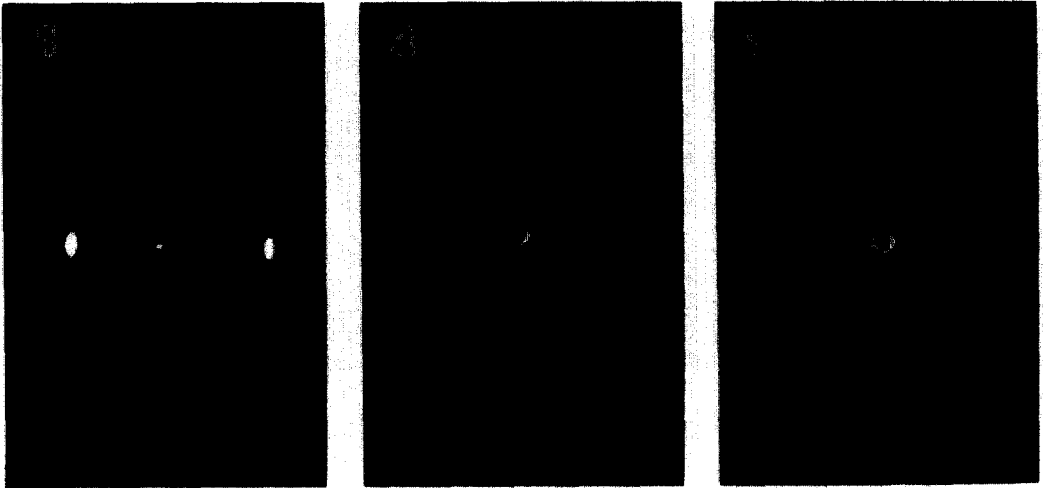


Fig. 2. Typical X-ray diffraction diagrams of *Pinus densiflora*.
 Note: 1; adult wood, 2; primary tissue, 3; secondary tissue

Valonia 95%, ramie 83%, 목재펄프 67%의 상대결정화도를 보고하고 있다. 따라서 목재셀룰로오스의 상대결정화도는 다른 천연셀룰로오스보다 낮으며 특히 1차조직의 상대결정화도는 2차조직이나 성숙재의 그것에 비해서도 다소 낮은 것으로 나타났다.

결정 내의 어느 면에 의해 나타나는 X선 회절곡선의 폭은 Laue 조건과 구조인자의 종에 의해 결정된다. 즉, 미결정의 폭이 큰 경우는 회절곡선의 폭이 좁고, 미결정의 폭이 작은 경우는 회절곡선의 폭은 넓어진다. 본 실험의 1차조직과 2차조직에서 구한 미결정의 폭은 Table 1에서 나타난 것과 같이 각각 2.0nm와 2.1nm로 거의 차이가 없는 것으로 생각된다.

Revol등(1987)은 *Valonia*에서 15.4nm, ramie 5.8nm, 목재펄프 4.0nm의 폭을 보고하고 있으며, Sugiyama 등(1985)은 전자현미경법에 의해 *Valonia* 셀룰로오스의 격자상을 관찰해서 20.0×20.0nm의 미결정의 폭을 보고하고 있다. 따라서 목재셀룰로오스의 미결정 폭은 비목재 cellulose에 비해 상당히 작으며 1차조직, 2차조직 및 성숙재 사이의 미결정 폭의 차이는 없는 것으로 시사되었다.

목재의 세포벽에 있어서 미결정의 배향은 상대결정화도와 함께 목재의 물리적, 역학적 성질에 깊게 관계한다. X선 회절법에 의해 측정되는 미결정의 배향도

는 시료목재 전체의 값으로 광학적 방법에 의해 구해지는 결과와는 다소 다른 의미를 갖는다. X선 회절도에 있어서 셀룰로오스의 미결정이 일정한 배향을 갖고 있는 경우는 회절점이 셀룰로오스의 결정축과 수직방향에 나타난다. 또 셀룰로오스 결정이 일정한 배향을 갖지 않는 경우는 Debye-Scherrer환으로 불리는 원형의 X선 회절도를 나타낸다.

본 실험에서 1차조직과 2차조직의 미결정의 배향성은 Fig. 2에서 잘 알 수 있다. 즉, 1차조직은 배향하고 있는 미결정보다 무배향의 미결정이 많고, 2차조직은 섬유축에 약 20~30°로 배향하고 있는 미결정이 많고 동시에 무배향의 미결정도 다소 갖고 있는 것으로 나타났다.

3.3 머서화에 의한 결정구조의 변화

셀룰로오스는 머서화에 의해 셀룰로오스 I에서 셀룰로오스 II로 불가역적인 변화를 한다(Okano & Sarko, 1984). X선 회절도에 나타나는 셀룰로오스 I과 II의 가장 큰 차이는 (110)의 회절각(2θ)이 저각축으로 이동하는 것이다.

3.5N 및 8.0N의 NaOH 수용액에서의 실시한 머서화의 결과는 Fig. 3 및 Fig. 4와 같다. 그 결과 1차조

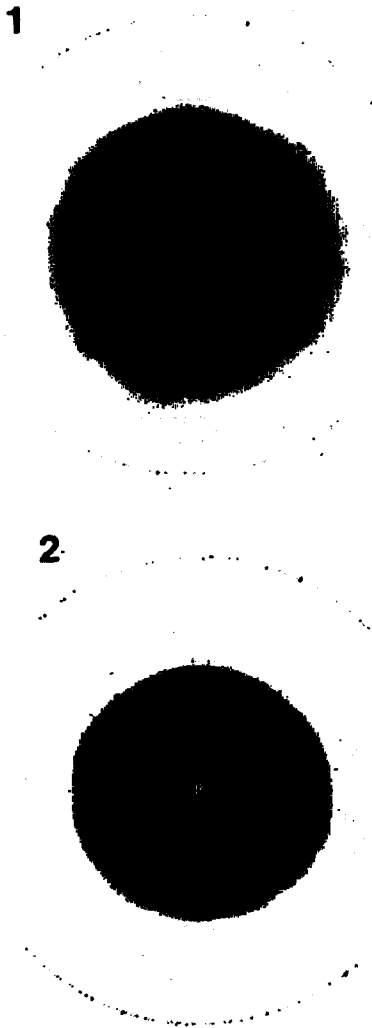


Fig. 3. X-ray diffraction diagrams of primary(1) and secondary(2) tissues of *Pinus densiflora* wood treated with 3.5N NaOH solution for 10 days.

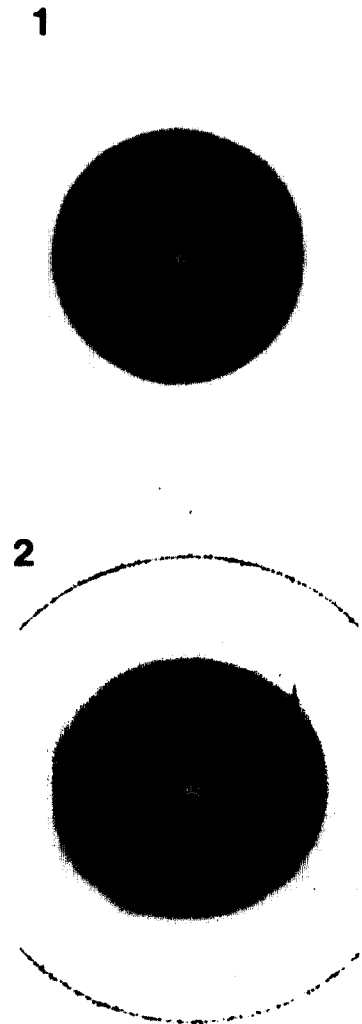


Fig. 4. X-ray diffraction diagrams of primary(1) and secondary(2) tissues of *Pinus densiflora* wood treated with 8.0N NaOH solution for 10 days.

작을 머서화한 경우는 셀룰로오스 I의 (1-10)와 (110)의 회절점이 소실되어 셀룰로오스 II의 회절도를 보여 주지만 2차조직의 경우는 셀룰로오스 I이 거의 그대로 남아 있는 것을 알 수 있다. 2차조직의 경우 알칼리 처리농도가 높아도 결정구조의 변화에는 영향을 주지 못하는 사실은 상당히 흥미롭다. 2차조직이 머서화되기

힘든 이유는 Revol & Goring(1981)이 제안한 리그닌의 작용과 Murase 등(1988)이 제안한 리그닌의 팽윤 억제설로 설명이 가능할 것으로 생각된다. 김·이(1999)는 최근 알칼리 처리목재를 탈리그닌 처리해도 결정변태가 발생하지 않는 것으로부터 리그닌이 존재하는 경우는 결정변태는 발생하지 않는 것으로 보고하

었는데 이것은 Revol & Goring의 결과를 지지하는 것으로 명확한 결론을 위해서는 금후 더욱 검토가 필요한 것으로 생각된다.

4. 결론

소나무(*Pinus densiflora*)재의 1차조직과 2차조직의 조직구조, 미세구조 및 머서화에 의한 결정구조의 변화를 검토하였다.

그 결과는 다음과 같다.

1. 1차조직의 현미경적 특징은 세포가 원형이며 내강이 크고 배열이 무질서한 데 반해 2차조직은 세포가 장방형이고 비교적 규칙적인 배열을 갖고 있다. 섬유장은 1차조직이 200~250 μ m, 2차조직이 1,500~1,600 μ m였으며, 내강의 직경은 1차조직 40~50 μ m, 2차조직 10~20 μ m였다. 그리고 1차조직과 1차방사조직은 비목화된 부분이 많은 반면 2차조직의 세포는 거의 목화되었다.
2. 1차조직과 2차조직에서 면간격과 미결정의 폭은 차이가 없었다.
3. 1차조직과 2차조직의 상대결정화도는 각각 23%와 35%로 다소 차이가 있었다.
4. 1차조직의 미결정은 Random한 배향을 나타냈지만 2차조직의 미결정은 섬유축에 20~30°의 배향도를 나타냈다.
5. 머서화에 의해 1차조직은 셀룰로오스 II로 변화되었지만 2차조직은 거의 변화되지 않았다.

참고 문헌

1. Atalla, R. H. and D. L. VanderHart, 1984. Native cellulose(A composite of two distinct crystalline forms), Science 223: 283-285.
2. Chanzy, H, 1979. Crystallographic aspects of sub-elementary cellulose fibrils occurring in the wall of rose cells cultured in vitro, Protoplasma 100: 303-316.
3. Kataoka, Y, and T. Kondo, 1996. Changing cellulose

crystalline in forming wood cell walls, Macromolecules 29: 6356-6358.

4. Murase, H., J. Sugiyama, H. Saiki and H. Harada, 1988. The effect of lignin on mercerization of cellulose in wood. (An electron diffraction study on the transformation from cellulose I to cellulose II), Mokuzai Gakkaishi 34: 965-972.
5. Nishimura, H., T. Okano and I. Asano, 1982. Fine structure of wood cell walls III. (On the natural occurrence of cellulose IV₁ in Red meranti), Mokuzai Gakkaishi 28: 484-485.
6. Okano, T. and A. Koyanagi, 1986. Structural variation of native cellulose related to its source, Biopolymers 25: 851-861.
7. Okano, T. and A. Sarko, 1984. Mercerization of cellulose I. X-ray diffraction evidence for intermediate structures, J. Appl. Polm. Sci, 29: 4175-4182.
8. Revol, J. F., A. Dietrich and D.A.I. Goring, 1987. Effect of mercerization on the crystallite size and crysallinity index in cellulose from different sources, Can. J. Chem, 65: 1724-1725.
9. Revol, J. F. and D.A.I. Goring, 1981. On the mechanism of the mercerization of cellulose in wood, J. Appl. Polm. Sci, 26: 1275-1282.
10. Sugiyama, J., H. Harada, Y. Fujiyoshi and N. Uyeda, 1985. Observations of cellulose microfibrils in *Valonia macrophysa* by high resolution electron microscopy, Mokuzai Gakkaish 31: 61-67.
11. Sugiyama, J, 1989. Ultrastructure of cellulose microfibrils revealed by lattice imaging, Ph.D Thesis, The University of Tokyo.
12. Sugiyama, J., R. Vuong and H. Chanzy, 1991. Electron diffraction study on the two crystalline phases occurring in native cellulose from an algal cell wall, Macromolecules 24: 4168-4175.
13. Wellard, H. J, 1954. Variation in the lattice spacing of cellulose, J. Polm. Sci, 13: 471-476.
14. 이원용, 김남훈, 1992. X선 회절법에 의한 주요 침, 활엽수재의 미세구조, 목재공학, 20(1): 28-37.

15. 김남훈, 이선호. 1999. X선 회절법을 이용한 목재 세포벽 중의 셀룰로오스의 구조해석. 임산에너지 18(2): 62-69.
16. 古野 毅, 澤邊 攻. 1994. 組織と材質. 海靑社. pp. 162-176.
17. 日本木材學會・物理・工學編輯委員會. 1985. 木材科學實驗書 I. 物理・工學編. 中外産業. pp. 53-94.
18. 高良和武, 菊田惺志. 1986. X線回折技術. 東京大學出版會. pp. 40-53.