

## 목질분해균에 의한 인피섬유의 미생물분해 특성<sup>1</sup>

윤승락<sup>2</sup> · 최인규<sup>3</sup> · 이재원<sup>4</sup> · 김재경<sup>2</sup>

## Characteristics of Microbial Decomposition of Bast Fibers by Wood Rot Fungi<sup>1</sup>

Seung-Lak Yoon<sup>2</sup> · In-Gyu Choi<sup>3</sup> · Jae-Won Lee<sup>4</sup> · Jae-Kyung Kim<sup>2</sup>

### 요 약

한지의 원료가 되는 닥섬유의 펄프화를 위해 인피부에 목질 분해균을 처리하여 인피섬유의 단섬유화를 위한 미생물의 분해특성과 처리시간별 인피섬유의 분리에 대하여 검토하였다.

판막버섯이나 구름버섯으로 20일간 처리시 중량감소율이 약 50%에 이르러 오히려 이용 가능한 섬유소의 분해도 함께 초래하는 것으로 추정할 수 있다. 그러나 꽃구름버섯이나 벽돌빛뿌리버섯은 인피섬유의 제일 외피에 존재하는 흑청색 부분을 잘 분해시키고 섬유소 손상을 적게하는 특성을 가진 것으로 나타났다. 꽃구름버섯은 처리 10일째까지 78.9%의 셀룰로오스 함량을 유지하고, 리그닌은 7.2%를 나타내어 제일 양호한 분해 양상을 보였다. 현미경적 관찰의 결과에서는 느타리버섯의 경우 처리 30일부터 인피부의 섬유가 분리되어 단섬유화 되며, 50일간 장기간 처리하여도 섬유표면의 손상은 발견되지 않았다.

### ABSTRACT

In order to use bast fibers of mulberry tree as a pulp source of Hanji, the bast fibers were microbiologically treated with several wood rot fungi, and the microscopic characteristics of bast fibers depending on treatment days were evaluated.

By wood rot fungi, *Phanerochaete chrysosporium* and *Trametes versicolor*, the weight reduction ratio was approximately 50 percent within incubation for 20 days, occurring together with decomposition of useful fibers. However, *Heterobasidion insularis* and *Stereum hirsutum* have completely decomposed the utmost layer of black blue colored bast fibers, and not caused the

1. 접수 2001년 6월 21일 Received June 21, 2001

2. 진주산업대학교 임산공학과 Department of Forest Products, Chinju National University, Chinju 660-758, Korea

3. 임업연구원 임산공학부 화학미생물과 Division of Wood Chemistry and Microbiology, Korea Forest Research Institute, Seoul 130-012, Korea

4. 서울대학교 농업생명과학대학 임산공학과 Department of Forest Products, Seoul National University, Suwon 660-758, Korea

damage of fibers.

Until incubation for 10 days, the cellulose content of vast fibers by *Stereum hirsutum* was 78.9 percent with lignin content of 7.2 percent, showing an appropriate decomposition for useful fibers.

By microscopic observation, the bundled fibers were separated to single fiber within treatment days 30 by *Pleurotus ostreatus*, and there were no damage on the surface of fiber by treatment days 50.

**Keywords :** Wood rot fungi, Bast fiber, Microbiological treatment, Microbial decomposition, Lignin, Hanji

## 서론

한지의 원료가 되는 섬유는 닥나무 수피의 인피부위에서 채취한 섬유이다. 인피부로 부터 섬유의 단섬유화(單纖維化)는 여러 단계를 거쳐게 되는데 그 중 가장 중요한 것은 증해 공정이다.

우리의 전통적인 증해공정은 쪼, 메밀대, 콩대, 쑥<sup>5)</sup> 등을 태워 얻은 재에 뜨거운 물을 조금씩 흘려내려 얻은 잿물로 백단을 넣고 약 10 시간 동안 증자하고 하룻밤 뜸을 들인 후 건져내어 물로 세척한다. 화학약품이 들어오면서 증해액으로 수산화나트륨이 대부분 사용되고 있다.

우리의 전통적인 방법인 잿물을 사용하게 되면, 잿물이 약 알칼리성의  $K_2CO_3$ 가 주성분이기 때문에 온화한 증자<sup>6)</sup>가 가능하여 인피섬유의 손상이 적을 것으로 생각된다.  $K_2CO_3$  증자에 의해 제조된 펄프는 NaOH 증자보다 펄프수율이 높고, 강도적 성질도 우수하다고 발표<sup>7)</sup>되었다. 그러나, 잿물을 생산하기 위해서는 다량의 재료가 필요하고, 공정이 번거로운 문제점이 있어 현재는 강알칼리성의 NaOH를 사용하고 있는 실정이다. NaOH에 의한 증자는 폐액이 수질오염을 야기 시키기 때문에 폐수 처리 공정이 필요하다.

목질 분해균에 대한 이용성은 과거부터 크라프트 펄프화 과정 중 리그닌을 분해시켜 표백

약품의 첨가량을 줄이고, 백색도 증가를 위한 표백공정에 이용되는 시도가 있었으며<sup>1,2)</sup>, 현재는 목질 분해균 자체가 갖는 lignin peroxidase, manganese peroxidase, laccase 등 효소의 비 특이성 때문에 난분해성 유해물질의 미생물분해에 이용되고<sup>3)</sup> 있다. 인피섬유의 증자에 잿물, 수산화나트륨을 사용하게 되면 상술된 문제점이 대두되게 되므로 이를 해결하기 위하여 인피부의 단섬유화를 목적으로 리그닌 분해력이 우수한 목질 분해균을 선정하여 처리시켜 미생물의 분해특성과 처리시간별 인피섬유의 분리에 대하여 검토하였다.

## 재료 및 방법

### 2.1 닥나무 백피

경남 의령군 부림면 신반리에서 채취한 닥나무를 박피하여 외피를 제거한 백피를 사용하였다.

### 2.2 균주 및 배양

이용한 균주는 임업연구원 천연물화학실에서 보존하고 있는 판막버섯(*Phanerochaete chrysosporium*), 구름버섯(*Trametes versicolor*), 느타리버섯(*Pleurotus ostreatus*), 영지버섯(*Ganoderma lucidum*), 콩버섯(*Daldinia concentrica*) 이었으며, RBB법에 의하여 리그닌

부후력이 높은 것으로 나타난 벽돌빛뿌리버섯 (*Heterobasidion insularis*), 유관버섯(*Abortiporus biennis*), 꽃구름버섯(*Stereum hirsutum*) 3종을 추가하여 실험하였다. PDA배지에서 먼저 배양한 후 다시 YMPG 배지(1ℓ의 증류수당, glucose 10g, malt extract 10g, bacto-peptone 2g, yeast extract 2g, asparagine 1g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1g, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 1g, thiamin 1mg, Bacto-agar 20g)로 옮겨져 재 배양시켰다. 액체 배양사에는 Tien과 Kirk 방법<sup>4)</sup>을 이용하였다.

### 2.3 백피의 미생물처리 및 중량감소율 측정

목질 분해균으로 백피를 처리하기 위하여 마요네즈병에 석영사 300g씩을 넣은 후 Tien과 Kirk의 shallow stationary culture 액체배지를 제조해 80ml씩 넣었다. 30분 동안 121℃에서 멸균한 후 냉각시킨 다음 균주를 지름 1cm로 절단하여 5개씩 각 병에 넣었다. 백피는 폭 2 ± 0.5cm, 길이 3 ± 0.5cm로 절단하여 60℃에서 건조시켜 무게를 잰 후 가스로 멸균시켰다. 균사가 완전히 마요네즈병 내의 석영사 배지 표면을 도포 한 후 백피를 넣어 10, 20, 30, 40, 50일간 처리하였다. 각 균주의 처리기간이 길어지면서 백피의 성상이 없어지는 경향이 있어서 나머지 3개의 균주를 이용해서 실험시에는 5, 10, 15일간 처리하였다. 처리가 끝난 백피는 표면에 붙어있는 균사를 잘 제거한 후 건조시켜 무게를 측정하였다.

### 2.4 미생물처리 백피의 화학적 분석

미생물을 처리한 백피의 중량감소율은 처리전의 백피 중량과 처리후의 백피 중량에서 감소량을 백분율로 계산하였다. 리그닌 및 전섬유소 분석은 TAPPI방법에 의해 측정하였다. 또한 미생물 처리에 의한 인피섬유의 분리의 육안적 관찰은 미분간섭 광학현미경을 이용하여 관찰 후 촬영하였다.

## 결과 및 고찰

### 3.1 미생물 처리에 의한 중량 감소율

판막버섯(*Phanerochaete chrysosporium*), 구름버섯(*Trametes versicolor*), 느타리버섯(*Pleurotus ostreatus*), 영지버섯(*Ganoderma lucidum*), 콩버섯(*Daldinia concentrica*)에 의한 배양기간별 중량감소율은 Fig. 1과 같다.

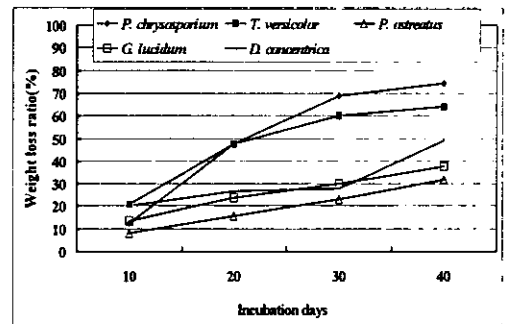


Fig. 1. Weight loss of bast fibers by microbial treatment using wood rot fungi, *Phanerochaete chrysosporium*, *Trametes versicolor*, *Pleurotus ostreatus*, *Ganoderma lucidum*, and *Daldinia concentrica*.

배양기간 10일경에는 5개의 균주 별로 느타리버섯을 제외하고는 중량감소율이 약 10~20%를 상회하여 균주간 차이가 약 5% 밖에 나지 않았으나 20일경부터는 판막버섯이나 구름버섯에 의한 중량감소율이 약 50%에 이르며 30~40일이 경과하면 60~75%로 아주 높게 나타났다. 또한 배양기간이 20일이 지나면서 백피 조직 자체가 흐트러져서 중량감소율 측정을 위한 균사 제거가 힘들었다. 이렇게 과도한 처리는 오히려 이용 가능한 섬유소의 분해도 함께 초래하는 것으로 추정하여 처리기간을 단축하는 것이 바람직한 것으로 판명되었다.

임업연구원에서 타 용도를 목적으로 RBBR법에 의한 균주 선발과정에서 리그닌 부후력이 높은 것으로 나타난 벽돌빛뿌리버섯(*Heterobasidion insularis*), 유관버섯(*Abortiporus biennis*), 꽃구름버

섯(*Stereum hirsutum*)에 의한 중량감소율은 Fig. 2와 같다. 3종의 균주는 배양기간 5일째에 약 8~13%의 중량감소율을 나타내며, 10일째에는 약 13~17%를 나타냈다. 특히 꽃구름버섯은 3균주 중 초기에는 낮은 중량감소율을 나타내나 15일째에는 32%의 높은 중량감소율을 나타냈다. 3균주의 특성은 위의 5균주와 비교하여 인피섬유의 제일 외피에 존재하는 흑청색 부분을 잘 분해시키고 섬유소 손상을 적게 하는 특성을 가진다.

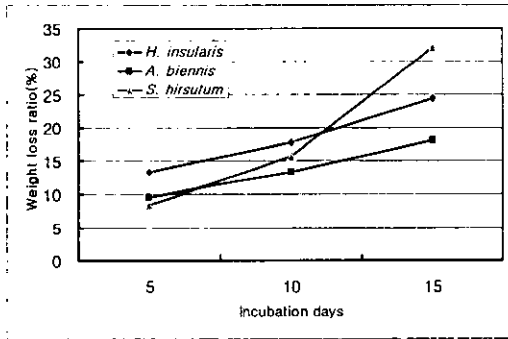


Fig. 2. Weight loss ratio of bast fibers by microbial treatment using wood rot fungi, *Heterobasidion insularis*, *Abortiporus biennis*, and *Stereum hirsutum*.

### 3.2 미생물 처리에 의한 화학성분 변화

백돌빛뿌리버섯(*Heterobasidion insularis*), 유관버섯(*Abortiporus biennis*), 꽃구름버섯(*Stereum hirsutum*) 처리에 의한 배양기간별 셀룰로오스 및 리그닌 변이는 Fig. 3과 같다. 미처리된 대조구의 셀룰로오스 함량은 81.5%, 리그닌 함량은 12.1%로 나타났다. 3균주 모두 15일까지 처리시 셀룰로오스 함량이 3.5~5.5%가 감소하였으며 리그닌은 3.7~5.4%가 감소한 것으로 나타났다. 꽃구름버섯은 처리 10일째까지 78.9%의 셀룰로오스 함량을 유지하고, 리그닌은 7.2%를 나타내어 제일 양호한 분해 양상을 보였다.

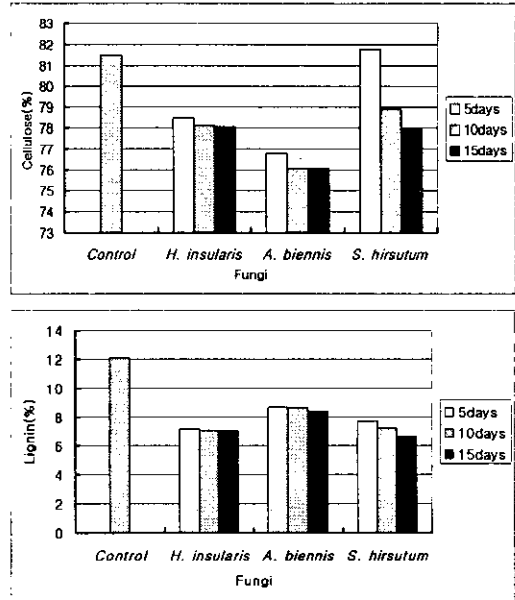


Fig. 3. Changes in the content of cellulose and lignin of bast fibers depending on incubation days by microbial treatment using wood rot fungi, *Heterobasidion insularis*, *Abortiporus biennis*, and *Stereum hirsutum*.

### 3.3 미생물 처리에 의한 인피섬유의 분리

일정한 크기의 인피부에 느타리버섯(*Pleurotus ostreatus*)을 10, 20, 30, 40, 50일간 처리하여 인피부 섬유소의 분리에 대하여 현미경을 이용하여 촬영한 것이 Fig. 4, 5, 6이다.

Fig. 4의 왼쪽은 10일간 처리한 것으로 미생물에 의해 세포간층의 리그닌이 분해되지 않아 섬유소가 해리되지 않고 결속상태로 되어 있으며, 오른쪽 사진은 20일간 처리한 것이다. 이 경우는 왼쪽사진과 같이 섬유소가 결속되어 있는 것으로 보아 미생물에 의한 세포간층의 리그닌이 분해되지 않았다. 30일 간 처리한 Fig. 5 (왼쪽)에서는 섬유소가 분리되어 단섬유화 된 모습을 볼 수 있으며, 섬유 한 두개가 결합된 섬유가 관찰되었다. 이런 경우는 고해과정에서 단섬유화가 가능하다고 생각된다.

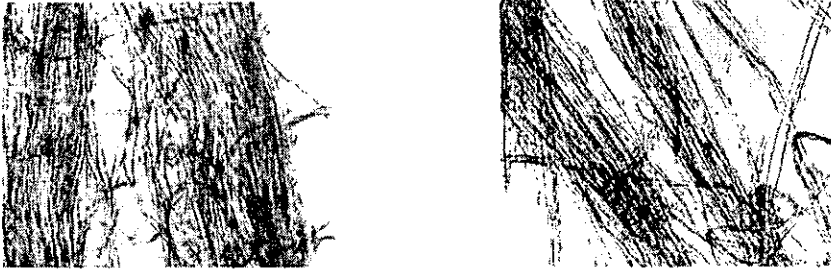


Fig. 4. Bast fibers degraded by *Pleurotus ostreatus* by days 10(left) and 20(right).

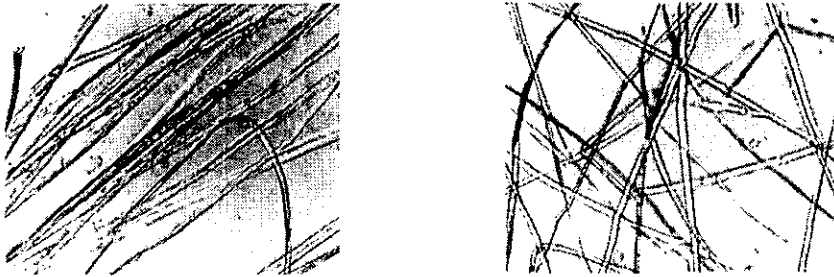


Fig. 5. Bast fibers degraded by *Pleurotus ostreatus* by days 30(left) and 40(right)days.

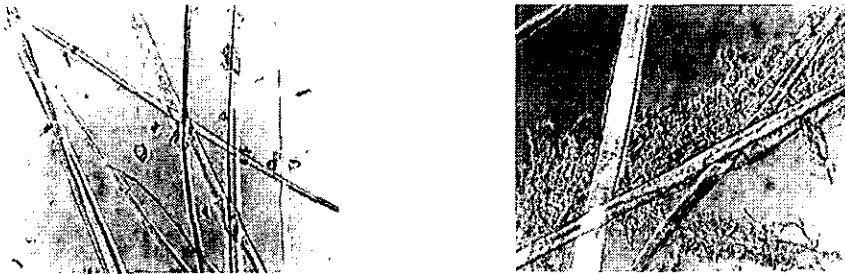


Fig. 6. Bast fibers degraded by *Pleurotus ostreatus* by days 50(left) and an hypha of *Pleurotus ostreatus* adhered on bast fibers.

Fig. 5의 오른쪽 사진은 40일간, Fig. 6은 50일간 처리한 것으로 인피부의 섬유가 완전히 분리되어 단섬유가 되었다. 처리시간이 가장 긴 Fig. 6의 섬유는 Fig. 4, 5의 섬유와 동일하게 관찰되었다. 즉, 미생물 처리시간이 길어도 세포표면은 손상이 없는 것으로 판명되었다.

광학현미경의 저 배율에서 관찰된 것으로 정확하지 않다고 생각되어, 전자현미경에서 고 배율로 섬유표면을 관찰할 필요가 있다.

Fig. 6의 오른쪽 사진은 30일간 처리한 것으로 섬유부근에 균사가 존재하고 있다. 미생물 처리 후 충분히 세척하였지만 극히 일부에서

섬유에 부착된 군사가 관찰되었다. 미생물에 의한 인피섬유의 제조에서는 군사를 완전히 제거하는 것도 생각해야만 할 것 같다.

현미경적 관찰의 결과에서는 느타리버섯의 경우 처리 30일부터 인피부의 섬유가 분리되어 단섬유화 되며, 50일간 장기간 처리하여도 섬유표면의 손상은 발견되지 않았다.

### 결론

한지의 원료가 되는 닥섬유의 펄프화를 위해 인피부에 목질 분해균을 처리하여 인피섬유의 단섬유화를 위한 미생물의 분해특성과 처리시간별 인피섬유의 분리에 대하여 검토한 결과는 다음과 같다.

1. 판막버섯이나 구름버섯으로 20일간 처리시 중량감소율이 약 50%에 이르러 오히려 이용 가능한 섬유소의 분해도 함께 초래하는 것으로 추정할 수 있다. 그러나 꽃구름버섯이나 벽돌빛뿌리버섯은 인피섬유의 제일 외피에 존재하는 흑청색 부분을 잘 분해시키고 섬유소 손상을 적게하는 특성을 가진 것으로 나타났다.
2. 꽃구름버섯은 처리 10일째까지 78.9%의 셀룰로오스 함량을 유지하고, 리그닌은 7.2%를 나타내어 제일 양호한 분해 양상을 보였다.
3. 현미경적 관찰의 결과에서는 느타리버섯의 경우 처리 30일부터 인피부의 섬유가 분리되어 단섬유화 되며, 50일간 장기간 처리하여도 섬유표면의 손상은 발견되지 않았다.

### 참고문헌

1. Bumpus, J. A., M. Tien, D. Wright, and S. D. Aust. 1985. Oxidation of persistent environmental pollutants by a white rot fungus. *Science*, 228: 1434~1436
2. Eaton, D. C., H. M. Chang, T. W. Joyce, T.

W. Jeffries, and T. K. Kirk. 1982. Method obtains fungal reduction of the color of extraction-stage kraft bleach effluents. *Tappi*, 65(6): 89~92

3. Teresa Moreira, M., G. Feijoo, R. Sierra-Alvarez, J. Lema, and J.A. Field. 1997. Manganese is not required for biobleaching of oxygen-delignified Kraft pulp by the white rot fungus *Bjerkandera* sp. Strain BOS55. *Appl. Environ. Microbiol.*, 63: 1749~1755
4. Tien, M., and T. K. Kirk. 1984. Lignin-degrading enzyme from *Phanerochaete chrysosporium*: purification, characterization and catalytic properties of an unique H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-requiring oxygenase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81: 2280~2284
5. 구자운. 1995. 전통한지 제조 방법. 한지의 종이 문화. 139~142
6. 문성필. 1999. 섬유의 손상이 적은 한지 제조 (제1보) -인피섬유 증자시 사용된 전통 갯물의 화학적 조성-. 펄프·종이기술, 31(1): 89~94
7. 문성필. 1999. 섬유의 손상이 적은 한지 제조 (제3보) -K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 증자하여 제조한 한지의 열 열화특성-. 펄프·종이기술, 31(3): 90~95