

## 청변균처리에 의한 소나무재의 추출물함량 변화\*1

조남석\*2† · 이종규\*3

### Changes in Extractives of Pine Woods Treated by Blue Staining Fungi\*1

Nam-Seok Cho\*2† · Jong Kyu Lee\*3

#### 요 약

본 연구에서는 변색균, 선발된 Albino 균주(BSFcs-1) 및 Cartapip 균주를 접종시킨 소나무재 및 리기다소나무재의 추출물함량 및 추출물성분의 화학적 조성 변화를 조사하였다. 청변균처리에 의하여 아세톤추출물의 함량이 급격히 감소되었는데, 무처리재의 추출물함량이 3주간 자연노화처리로 약 20% 감소되었으며, 변색균, Albino 균주(BSFcs-1) 및 Cartapip균주처리로 소나무재의 경우 25.1~30.4%의 추출물이 감소하였다. 한편 리기다소나무의 경우는 추출물 함량이 22.9~28.1% 감소되었다. 처리전 및 처리후의 추출물의 조성변화를 분석한 결과, 소나무재와 리기다소나무재 모두 자연노화 및 변색균처리로 그 함량이 낮아졌다. 추출물조성을 살펴보면 fatty acids와 sterols은 3주간 자연노화처리로 10.6~11.2%, 변색균처리로 36~41.1%의 높은 감소율을 나타냈다. 또한 triglycerides도 3주간 자연노화처리로 5.68~9.4%, 변색균처리로 38.5~40.0% 높은 감소율을 나타냈다. Resin acids의 경우 3주간 자연노화처리로 6.1~11.3%, 변색균처리로 36~41.5%의 감소율을 나타냈다. 추출물 함량에 있어서 변색균과 선발된 무색균주(albino균주) 간에는 큰 차이가 없었다. 본 연구로부터 목재변색을 생물학적으로 방제할 목적으로 국내에서 선발된 albino균주(BSFcs-1)가 추출물함량을 효과적으로 감소시키는 것을 확인할 수 있었다.

#### ABSTRACT

This study was performed to understand the changes in wood extractives, mainly acetone extracts, in pine woods (*Pinus densiflora* and *Pinus rigida*) treated by three blue stain fungi (BSF) such as native

\* 1 접수 2005년 5월 6일, 채택 2005년 6월 11일

This study was carried out with the support of KOSEF Grant (R01-2001-000519).

\* 2 충북대학교 산림과학부 목재·종이과학 전공 Wood and Paper Science, Chungbuk National University, Cheongju, Korea

\* 3 강원대학교 산림과학대학 산림자원보호학 전공 Division of Forest Resources, Kangwon National University, Chuncheon, Korea

† 주저자(corresponding author) : 조남석(e-mail: nscho@chungbuk.ac.kr)

BSF in Korea, *Leptographium* sp., screened Albino strain (BSFCs-1) and commercial Cartapip. BSF treatment has significantly reduced acetone extracts, 25.1~30.4% decreasing in red pine and 22.9~28.1% in pitch pine. The decreasing rates of fatty acids and sterols in woods were 10.6~11.2% by 3 week aging and 36~41.1% by BSF treatments, respectively. Triglycerides were also decreased to 5.68~9.4% by 3 week aging and 38.5~40.0% by BSF treatments, respectively. Resin acids were 6.1~11.3% by 3 week aging and 36~41.5% by BSF treatments, respectively. There were not so significant differences in extracts among native BSF and Albino-type strains (Albino strain, BSFCs-1, and commercial Cartapip). It was known that the Albino strain (BSFCs-1) screened for the biocontrol of wood discoloration has effectively decreased acetone extractives in pine woods.

**Keywords:** blue stain fungi, *Leptographium*, Cartapip, extractives, fatty acids, sterols, triglycerides, resin acids

## 1. 서 론

목재의 변색은 벌채된 목재를 저장 중에 있거나 이용될 때까지 자연상태에 방치하였을 때 일어나며, 이러한 변색현상은 목재변색균에 의하여 일어난다. 이러한 목재의 변색은 목재의 미학적 가치를 낮춤으로써 재료로서의 가치를 상실시키며, 목재 거래시 구매자의 거부감으로 인하여 계약이 파기되는 결정적인 역할을 하게 된다. 또한 목재가 건축재나 가구재로 이용될 때 목재의 미관을 떨어뜨리고, 경우에 따라서는 목재의 경도를 저하시키는데, 예를 들면 소나무 변재의 경우 15~30%, 활엽수재의 경우 43~73%의 경도 감소를 가져온다(Encinas *et al.*, 1998). 아울러 이러한 변색된 목재나 칩을 이용하여 펄프를 제조하였을 때 백색도가 낮은 저급의 펄프를 만들게 되어 펄프의 표백에 많은 약품과 비용이 소요(Chakravarty *et al.*, 1994)되면서, 궁극적으로 최종 종이제품의 상품 가치를 떨어트리게 한다(Chidester *et al.*, 1938; Blanchette *et al.*, 1992; Seifert *et al.*, 1987; Seifert, 1993).

목재 변색균은 Ophiostomatoid fungi에 속하는 *Ophiostoma* 및 *Ceratocystis*에 의해 일어나는데, 이들 변색균은 목재의 셀룰로오스 및 리그닌을 분해시키는 능력을 가지지 않으나, 수지, 추출물, 전분 및 간단한 당류를 분해시킨다. 이들이 신선한 목재에 침입하게 되면 청색, 회색, 갈색 내지는 흑색의 특징적인 변색을 변재부에 일으킨다(Murdoch, 1992; Farrel

*et al.*, 2000). *Ophiostoma* genus에 속하는 균류가 수지의 분해 및 청변균의 방제에 매우 효과적인 것이 보고(Farrel *et al.*, 1993; Farrel *et al.*, 2000)되었으며, 수지 및 수피의 제거에도 매우 효과적이었다(Behrendt and Blanchette, 1997). 이러한 연구결과로서 시판 Cartapip 97은 *Ophiostoma piliferum*의 분리균주들로부터 분리한 자낭포자를 mating시켜 제조되었으며, TMP를 생산하는 미국의 Bear Island Paper Co., Sandoz group 및 Robert Blanchette 및 Thomas Harrington의 공동연구로 개발되었다(Behrendt *et al.*, 1995a; Behrendt *et al.*, 1995b). Cartapip 97 접종을 통한 변색균의 생물학적 방제기술이 실험실적으로 실증되었으며(Behrendt *et al.*, 1995a), 펄프제지공업을 위하여 변색균을 방제하기 위한 생물학적 방법의 개발이 진행중에 있다(Farrel *et al.*, 2000; Pashenova *et al.*, 2005a; Pashenova *et al.*, 2005b).

본 연구에서는 변색균에 의해 변색이 일어난 목재와 선발된 무색균주를 접종시킨 목재시료의 추출물함량을 포함한 화학적 조성의 변화를 조사하고자 하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 공시재의 변색균처리

공시한 소나무(*Pinus densiflora*)재와 리기다소나

Table 1. Chemical properties of sound pine woods

Chemical components	Contents, %	
	<i>P. densiflora</i>	<i>P. rigida</i>
Extractives		
Cold Water	165	205
Hot Water	328	385
1% NaOH	138	148
Acetone	451	544
Ash	038	041
Lignin	27.8	29.0
Pentosan	15.5	16.7
Holocellulose	73.7	72.5

무(*Pinus rigida*)재는 충북대학교 부속연습림(충북 제천군 한수면 송계리소재)에서 벌채하여 공시하였으며, 펄프제조용 크기로 조제한 목재칩에 접종한 변색균주는 잣나무에서 분리한 *Leptographium* sp., 스크리닝한 무색균주(albino균주)는 리기다소나무 변색재로부터 분리, 스크리닝한 무색균주 'BSFcs-1' (Lee and Oh, 2000), 그리고 시판되고 있는 Cartapip (*Ophiostoma piliferum*의 albino 균주, 미국 Sandoz Chemical Corporation, Charlotte, NC에서 생산되는 제품; 현재는 회사의 이름이 Clariant Corporation)을 미네소타대학 Blanchette교수로부터 분양받아 사용하였다. 그리고 이들 균주는 목재칩을 autoclave한 후 접종하여 25°C 항온배양기에서 암상태로 21일간 배양하였으며, 대조구로서는 변색되지 않은 무처리 목재칩을 사용하였다.

## 2.2. 목재의 조성분 분석

성분분석용 시료는 음건 후 분쇄하여 40~60 메쉬로 분쇄한 다음, 회분, 냉수, 온수, 아세톤 및 1% NaOH추출물 등은 KS 규격에 의해 분석하였다. 리그닌, 펜토산 및 홀로셀룰로오스 함량은 알콜-벤젠 혼합액(1:2, v/v)으로 8시간 탈지 처리하여 건조 후, KS 규격에 의해 정량하였다.

## 2.3. 아세톤추출물의 조성분 분석

시료의 아세톤추출은 KS 규격의 유기용제추출방법

Table 2. Total acetone extractives of blue stained pine woods

Fungi	Contents, %	
	<i>P. densiflora</i>	<i>P. rigida</i>
Control 1 (fresh)	4.51	5.44
Control 2 (aged 3 weeks)	3.65	4.39
Blue staining fungi	3.14	3.96
Albino, BSFcs-1	3.23	3.91
Cartapip	3.38	4.19

에 따라 속시렛추출기를 사용하여 8시간 추출하고, 용매는 50°C의 rotary evaporator에서 증발시킨 후, 5 ml의 tetrahydrofurane에 용해시켜 HPLC분석을 행하였다. 조성분의 분석은 tetrahydrofurane에 녹인 아세톤추출물 125  $\mu$ l, 0.5 ml의 tetrahydrofurane에 녹인 2.5 mg의 vanillin을 내부표준품으로 하여 HPLC (Hewlett Packard HP 3396 II Integrator, HP 1050 pump, Waters R401 refractive index detector)를 행하였다. 분리는 Precolumn으로서 Shodex GPC KF-800P (Milipore Co., Waters Chromatography Div. Milford, MA, USA)가 연결된 2종의 Ultrastyrigel column (300 $\times$ 7.8 mm, 10과 50 nm의 pore size)을 사용하여 행하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. 목재의 조성분

목재를 구성하는 주성분은 Table 1에서 보는 바와 같이 리그닌, 펜토산, 홀로셀룰로오스이며, 그 나머지가 부성분으로서 각종 용매에 추출되는 성분으로 이루어진다. 회분은 소나무재 0.38%, 리기다소나무 0.41%로서 유사하였으며, 유기용제추출물·리그닌·펜토산 함량이 리기다소나무가 1% 정도 더 많았다.

### 3.2. 변색재의 추출물함량 변화

Table 2는 아세톤을 사용하여 청변균 처리재의 추출성분의 함량을 측정된 자료로서 청변균 처리에 의하여 아세톤추출물의 함량이 급격히 감소됨을 알 수

Table 3. Changes in extractive components of blue stained red pine wood

Fungi	Contents in acetone extracts, %				
	Fatty acids & Sterols	Triglycerides	Resin acids	Steryl esters	Others
Control 1 (fresh)	1.07	0.96	0.82	-	1.71
Control 2 (aged 3 weeks)	0.95	0.87	0.73	-	1.76
Blue staining fungi	0.63	0.58	0.51	-	1.88
Albino, BSFcs-1	0.63	0.59	0.49	-	1.85
Cartapip	0.63	0.59	0.48	-	1.77

있었다. 무처리재의 추출물함량은 3주간의 자연노화 처리로 약 20% 감소되었으며, 청변균을 처리함으로써 소나무재의 경우 25.1~30.4%의 추출물이 감소되었다. 한편 리기다소나무의 경우 추출물함량이 5.44%로서 소나무재보다 높았으며, 3주간의 자연노화 처리로 19.3%의 아세톤추출물함량이 감소되었고, 청변균처리로 22.9~28.1% 감소되었다. Albino균주(BSFcs-1) 및 Cartapip균주도 높은 추출물감소를 보였으며, Cartapip균주보다는 Albino균주의 추출성분의 감소효과가 컸다.

소나무재의 아세톤추출물을 분석한 결과, 정상재의 경우 그 상대적 함량이 fatty acids와 sterols이 23.4%로 가장 많았고, triglycerides 21.1%, resin acids 18%로 이루어졌음을 알 수 있었으며, steryl esters는 거의 검출되지 않았고, 정성이 어려운 broad peak를 이루는 부분이 37.5%나 있었다. 이 부분은 페놀화합물, lignan 및 non-lipid 화합물로 구성된 것(Chen *et al.*, 1994; Rocheleau *et al.*, 1998; Dorado, 2000)으로 생각되고 있다. Table 3은 소나무재의 아세톤추출물의 조성분 변화에 미치는 청변균처리의 효과를 분석한 결과이다.

소나무재의 아세톤추출물을 구성하는 성분들은 Fig. 1에서 보는 바와 같이 자연노화 및 변색균처리로 그 함량이 낮아지는 결과를 나타냈는바, 추출물가운데 가장 많은 함량을 차지하는 fatty acids와 sterols 성분이 3주간의 노화처리로 11.2% 감소되었는데 대하여, 변색균의 처리로 41.1% 전후의 높은 감소율을 나타냈다. 변색균과 공시된 Albino균주(BSFcs-1) 및 Cartapip균주 간에는 거의 차이가 없었다. Triglycerides도 3주간의 노화처리로 9.4% 감소되었으며, 변색균, Albino균주(BSFcs-1) 및 Cartapip균주의 처리로 38.5~39.6%의 비교적 높은 감소율을 나타냈

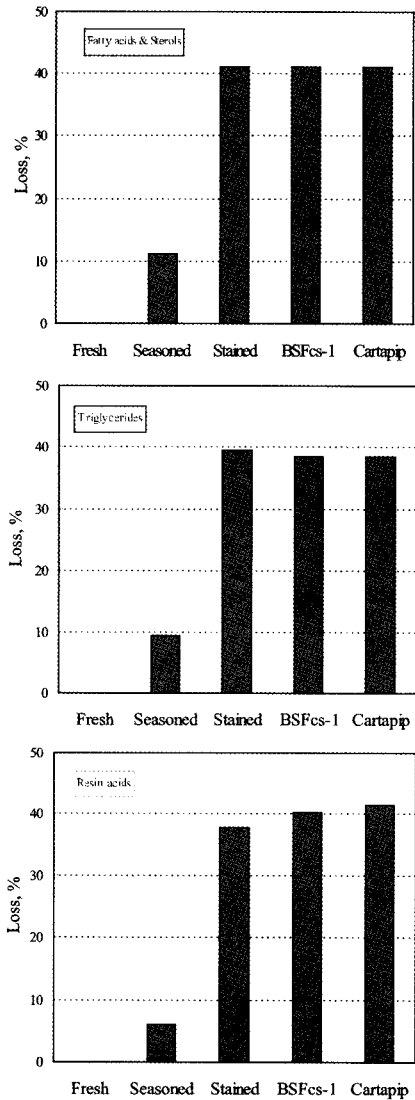


Fig. 1. Loss of acetone extractives in red pine wood after 3 weeks treatment.

Table 4. Changes in extractive components of blue stained pitch pine wood

Fungi	Contents in acetone extracts, %				
	Fatty acids & Sterols	Triglycerides	Resin acids	Steryl esters	Others
Control 1 (fresh)	218	176	186	-	201
Control 2 (aged 3 weeks)	195	166	165	-	196
Blue staining fungi	140	105	120	-	192
Albino, BSFcs-1	138	104	119	-	189
Cartapip	139	105	118	-	189

다. Resin acids의 경우, 3주간의 자연노화처리로 6.1%의 감소율, 변색균처리로 37.8~41.5%의 감소율을 나타냈으며, 변색균보다는 albino균주(BSFcs-1 및 Cartapip)가 다소 높은 감소율을 나타냈다.

리기다소나무재의 아세톤추출물을 구성하는 성분들의 함량변화에 미치는 변색균처리효과는 Table 4에서 보는 바와 같이 정상재의 경우 그 상대적 함량이 fatty acids와 sterols이 27.9%로 가장 많았고, triglycerides 22.5%, resin acids 23.8%로 이루어졌음을 알 수 있었으며, steryl esters은 거의 검출되지 않았고, broad peak를 이루는 부분이 25.8%로서 정성이 불가능하였다.

Fig. 2는 자연노화 및 변색균처리로 추출성분의 함량이 낮아지는 결과를 나타냈는데, 추출물가운데 가장 많은 함량을 차지하는 fatty acids와 sterols 성분이 3주간의 노화처리로 10.6% 감소되었는데 대하여, 변색균, Albino균주(BSFcs-1) 및 Cartapip균주 처리로 약 36%의 높은 감소율을 나타냈다. 변색균과 Albino균주간에는 차이가 없었다. Triglycerides의 경우에도 3주간의 노화처리로 5.68% 감소되었으며, 변색균들의 처리로 약 40%의 비교적 높은 감소율을 나타냈다. Resin acids의 경우도 마찬가지로 3주간 노화처리로 11.3%의 감소율, 변색균, Albino 균주(BSFcs-1) 및 Cartapip균주처리로 약 36%의 감소율을 나타냈으며, 변색균과 albino균주(BSFcs-1 및 Cartapip)간에는 차이가 없었다. 이 결과로부터 국내에서 선발된 albino 균주(BSFcs-1)가 목재의 변색을 생물학적으로 방제할 수 있다는 것과, 추출물함량을 효과적으로 감소시키는 것을 확인할 수 있었다.

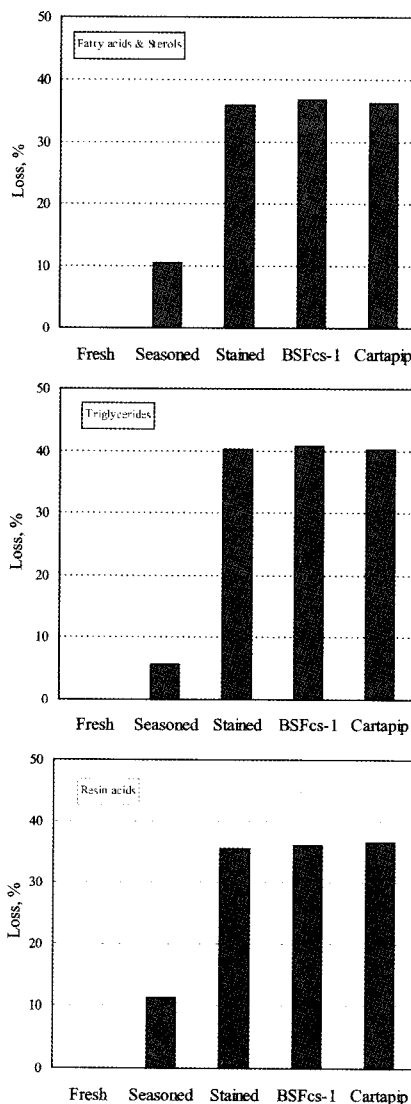


Fig. 2. Loss of acetone extractives in pitch pine wood after 3 weeks treatment.

## 4. 결 론

본 연구는 변색균처리한 목재와 선발된 무색균주를 접종시킨 목재시료의 추출물함량을 포함한 화학적 조성분 함량의 변화를 조사하기 위하여 수행하였다. 무처리재의 추출물함량은 3주간의 자연노화처리로 약 20% 감소되었는데 대하여, 청변균처리로 소나무재의 경우 25.1~30.4%, 리기다소나무의 경우 3주간 자연노화처리로 19.3%, 청변균처리로 22.9~28.1%나 감소되었다. Albino균주(BSFcs-1) 및 Cartapip균주도 높은 추출물감소를 보였으며, Cartapip균주보다는 Albino균주의 추출성분의 감소효과가 컸다. 변색균처리에 의한 추출물의 조성변화를 분석한 결과, 소나무재와 리기다소나무재 모두 자연노화 및 변색균처리로 그 함량이 낮아졌는데, fatty acids와 sterols은 3주간 자연노화처리로 10.6~11.2%, 변색균처리로 36~41.1%의 높은 감소율을 나타냈다. Triglycerides도 3주간 자연노화처리로 5.68~9.4%, 변색균처리로 38.5~40.0% 높은 감소율을 나타냈다. Resin acids의 경우 3주간 자연노화처리로 6.1~11.3%, 변색균처리로 36~41.5%의 감소율을 나타냈으며, 변색균과 albino균주(BSFcs-1 및 Cartapip)간에는 큰 차이가 없었다. 따라서 목재의 변색을 생물학적으로 방제할 목적으로 국내에서 선발된 albino균주(BSFcs-1)가 추출물함량을 효과적으로 감소시키는 것을 확인할 수 있었다.

## 참 고 문 헌

- Behrendt C. J. and R. A. Blanchette. 1997. Biological processing of pine logs for pulp and paper production with *Phlebiopsis gigantea*. Appl. Environ. Microbiol. 63(5): 1995~2000.
- Behrendt C. J., R. A. Blanchette, and R. L. Farrel. 1995a. Biological control of blue stain fungi in wood. Phytopathology 85: 92~97.
- Behrendt C. J., R. A. Blanchette, and R. L. Farrel. 1995b. An integrated approach using biological and chemical control to prevent blue stain in pine logs. Can. J. Bot. 73: 613~619.
- Blanchette R. A., R. L. Farrel, and T. A. Burness. 1992. Biological control of pitch in pulp and paper production by *Ophiostoma piliferum*. Tappi J. 75(12): 102~106.
- Chakravarty P., L. Trifonov, and L. J. Hutchison. 1994. Role of *Sporormiella similis* as a potential bioprotectant of *Populus tremelloides* wood against the blue-stain fungus *Ophiostoma piliferum*. Can. J. For. Res. 24: 2235~2239.
- Chen T., Z. Wang, Y. Gao, C. Breuil, and J. V. Hatton. 1994. Wood extractives and pitch problems: analysis and partial removal by biological treatment. Appita 46: 463~466.
- Chidester G. H., M. W. Bray, and C. E. Curran. 1938. characteristics of sulfite and kraft pulps from blue-stained southern pine. Paper Trade J. 106(14): 43~46.
- Dorado, J. 2000. Degradation and detoxification of softwood extractives by sapstain fungi. Bio-resource Technol. 71: 13~20.
- Encinas O., B. Henningsson, and G. Daniel. 1998. Changes in toughness and fracture characteristics of wood attacked by the blue stain fungus *Lasiodiplodia theobromae*. Holzforshung 52(1): 82~88.
- Farrel R. L., R. A. Blanchette, and T. S. Brush. 1993. Cartapip: a biopulping product for control of pitch and resin acid problems in pulp mills. J. Biotechnol. 30: 115~122.
- Farrel R. L., J. Mulcahy, and R. Nobbs. 2000. Research in progress: resin degradation and brightness increase of radiata pine with fungal treatment in lab and mill trials. In: Proceed. of Intern. Symp. On Environmentally Friendly and Emerging Technologies for a Sustainable Pulp and Paper Industry, April 25~27, 2000, Taipei, pp. 279~284.
- Lee J. K. and E. S. Oh. 2000. Potentials for biological control of blue stain on woods caused by Ophiostomatoid fungi. Plant Pathol. J. 16(4): 200~205.
- Murdoch, C. W. 1992. Alternatives to Petroleum-Based Biocides for Protecting Hardwood Lumber and Manufactured Products/Transferring Technologies for Industry No. 4, US National Agri-

- cultural Library Catalog. ISSN 1064~3451.
14. Pashenova, N., J.-K. Lee, and N.-S. Cho. 2005a. Decolorization of blue-stain by dual culture of blue staining and basidial Fungi. *Mokchae Konghak* 33(2): 65~71.
  15. Pashenova, N., J.-K. Lee, and N.-S. Cho. 2005b. Frequency of blue staining fungi isolated from pine trees of experimental forests in Kangwon National University and its resistance to fungicide, Woodguard. *Mokchae Konghak* 33(2): 56~64.
  16. Rocheleau, M. J., B. B. Sitbole, L. H. Allen, S. Iverson, R. Farrel, and Y. Noel. 1998. Fungal treatment of aspen chips for wood resin reduction: a laboratory evaluation. *JPPS* 24(2): 37~42.
  17. Seifert, K. A., W. E. Hamilton, C. Breuil, and M. Best. 1987. Evaluation of *Bacillus subtilis* C186 as a potential biological control of sapstain and mould on unseasoned lumber. *Can. J. Microbiol.* 33(12): 1102~1107.
  18. Seifert K. A. 1993. Sapstain of commercial lumber by species of *Ophiostoma* and *Ceratocystis*. In: *Ceratocystis* and *Ophiostoma*: Taxonomy, Ecology, and Pathogenesis. M.J. Wiengfield, K.A. Seifert, and J.F. Webber, eds. American Phytopathological Society, St. Paul, MN. pp. 141~151.