

톱밥을 이용한 미생물사료에 관한 연구 (I) 리그닌 및 단백질 함량의 변화

이 배 합

건국대학교 응용미생물연구소

Microbial Treatment of Saw Dust for Animal Food (I) Changes of Lignin and Protein Contents

Bae Ham Lee

The Institute of Applied Microbiology, Kon-Kuk University, Seoul, Korea

Abstract: Twelve strains of wood decaying Basidiomycetes were tested for ability to decompose lignin in saw dust of Pine, Quercus, Rawan and Zelkova, wood and to transform inorganic nitrogen in the medium into organic crude protein.

In this test, one strain of *Pleurotus ostreatus* showed to be 49% of its ability of lignin decomposition. The increasing rate of the crude protein went up to 26%. It is considered, therefore, saw dust can be a useful animal food by microbial treatment.

서 론

세계적으로 식량사정이 어려워져 가고 있고, 특히 우리나라는 매년 약 30%의 부족 양곡을 도입하여야 할 사정에 놓여 있다. 그래서 비옥한 식량생산용 농토에서 식량생산이외의 작물을 재배할 수는 없을 것으로 보이며, 따라서 이런 농토에서 사료작물 재배도 곤란할 것이다. 그러므로 축산 발전의 전제 조건이 되는 사료생산은 매우 난처한 입장에서 있다. 그런데 우리나라 국토의 70% 이상이 임야로 되어 있으므로 여기서 사료를 생산할 수만 있다면 매우 바람직한 일이라 할 수 있다. 그래서 필자는 임산 부산물인 톱밥을 발효시켜 사료로 활용할 수 없겠는가 생각하여 기도한 것이 본 보고서의 내용이다. 목재는 물질부에 가축이나 인간의 소화계에서 분비하는 효소로서는 분해 되지 않는 lignin이 함유되어 있어 식량은 물론 사료로서 사용될 수 없다. 그런데 목재 부후균에는 lignin을 분해하는 균주들이 보고되었는데(Adler, 1961; Cowling, 1961; Gottlieb et al., 1950; Higuchi, 1954; Kirk and Kelman, 1965; Kirk and Adler,

1970; Pelczar, et al., 1950; Tono et al., 1968; Waksman and Hutching, 1936), 특히 Cowling(1961)에 의하면 백부균(White-rot fungi) 중에는 목질부의 lignin을 97%까지 분해시킬 수 있는 균주가 보고 되었다. 또 Kirk(1965)에 의하면 상당히 많은 종류의 담자균류에 속하는 균주들이 lignin을 분해할 수 있다고 한다. 또 Cowling(1958, 1960), Greaves(1971) 등에 의하면 목재 부후균들에는 lignin과 함께 Cellulose도 잘 분해한다는 것이 보고 되었다. 따라서 목재를 제재할 때 부산물로 생산되는 톱밥을 위의 부후균으로 처리하여 lignin을 분해시킬 수 있다고 하면 이것은 사료로서 사용될 수 있을 것이다. 그래서 필자는 우리나라에서 주로 연료로 이용되고 있는 톱밥을 목재 부후균으로 처리하여 가축에게 소화될 수 있는 사료로 전환시키고자 본 연구를 기도하였다. 또 첨가하여 이들 목재 부후균의 배양으로 단백질의 절대량을 증가시키고자 하였다.

본 연구는 산학협동재단의 연구비 원조로 이루어졌음을 밝히며 동 재단에 심심한 감사를 드리는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

가. 톱밥

서울특별시내 제재소에서 다음 4종을 얻었다.

- 1) 미송 톱밥(이하 P로 약칭함)
- 2) 느티나무 톱밥(이하 Z로 약칭함)
- 3) 참나무 톱밥(이하 Q로 약칭함)
- 4) 라왕 톱밥(이하 R로 약칭함)

나. 배지

톱밥배지의 조성은 다음과 같다.

각종 톱밥.....	800g
쌀겨.....	200g
CaCl ₂	15g
MgSO ₄	1g
NH ₄ NO ₃	10g
KH ₂ PO ₄	5g
물.....	1000ml

다. 공시균주

표 1에서와 같이 담자균류에 속하는 12균주를 공시하였다.

Table 1. The Source and origin of the fungus strains used in the present investigation

No.	Scientific name	Origin and Source
P-1	<i>Pleurotus ostreatus</i>	Lab. of Microbio., Kon Kuk Univ.
P-2	"	"
P-3	"	Inst. Agr. Sci., Suweon, Korea
P-4	"	"
P-5	"	"
P-6	"	"
F-1	<i>Flammulina velutipes</i>	"
F-2	"	"
L-1	<i>Lentinus edodes</i>	"
L-2	"	"
L-3	"	"
A-1	<i>Agaricus bisporus</i>	Lab. of Microbio., Kon Kuk Univ.

2. 실험 방법

가. 제 1 차 균주 선발

구경 1.6 cm, 길이 17.5 cm의 긴 시험관에 위 톱밥 배지를 20 g씩 넣고 면전을 한 다음 15 Lbs에서 30분간 멸균하고 공시균을 접종한 다음 30°C에서 배양하였다. 매일 오전 10시 시험관 내에서 균사가 발육한 길이를 측정하여 4가지 배지에서 15일까지 5cm이상 성장한 균주를 제 1차로 선발하였다.

나. 톱밥 배지의 선정

제 1차 균주 선발 시험에서 볼 수 있는 바와 같이 톱밥의 종류는 균의 성장속도에는 큰 영향을 주는 것 같지 않았으므로 비교적 제재소에서 많이 얻을 수 있고 각종 균주가 잘 성장하는 라왕 톱밥을 선정하였다.

다. 배양 조건

500 ml 광구 배양병에 공기가 통하게 면전을 하고

30°C 항온기에서 배양하였다. 제 1차 균주 선발 실험은 15일 배양하고, 제 2차 본 실험은 30일로 배양을 끝마쳤다.

라. Lignin 분석 방법

일본국 팔푸재 분석시험방법 전문위원회가 1961년에 제정한 팔푸재의 리그닌 시험 방법(JIS, 1961)에 따랐다. 즉 알코올·벤젠 혼합액으로 탈지한 시료 1~2 g을 100 ml용 비-카에 채취하고 72% H₂SO₄ 15 ml를 가하고 충분히 교반한 다음 20°C에서 4시간 방치한 후 1 l용 3각 후라스크에 옮기고 H₂O를 첨가하여 H₂SO₄가 3%되게 희석한 다음 역류 냉각 후라스크에 4시간 끓였다. 방냉한 후 후라스크 내용물을 항량을 아는 글라스 여과기로 여과하고 세척 건조, 평량하였다.

Lignin의 함량 L(%)은 다음 식으로 계산하였다.

$$L = \frac{W}{S} \times 100$$

S: 시료의 절대중량(g)

W : 잔류물의 증량(g)

다. 단백질 분석 방법

함유 질소(N)량의 6.25배를 하여 조단백질로 간주하였다.

결 과

여러 곳에서 수집된 담자균류에 속하는 12균주를 공시한 제1차 예비실험 결과는 표 2에서 보는 바와 같으며 15일간 배양한 결과, 4가지 톱밥배지에서 모두 5cm이상 성장한 균주는 느타리버섯의 1종인 P-1뿐이었다. 그런데 15일간 5cm이상 성장한 균주를 보면 P-2가 참나무 및 라왕 배지에서, P-4가 참나

무 배지에서만, P-5가 소나무, 참나무 및 라왕 배지에서 그리고 P-6이 참나무 배지에서 잘 자라는 것을 볼 수 있었다. 그러나 팽이버섯(*Flammulina* sp.), 표고버섯(*Lentinus* sp.) 및 양송이(*Agaricus* sp.)는 공시 4종의 배지에서는 15일 내에 5cm이상 성장하지 못하였다. 그런데 느타리버섯(*Pleurotus ostreatus*)에 속하는 균주들은 배지에 따라 다소의 차이는 있지만 비교적 잘 성장하였다. 그래서 P-1주를 본 실험에 공시하기로 하였다. 또 배지 조건을 보면 라왕 톱밥과 참나무 톱밥이 양호하였다. 그래서 톱밥은 국내 제재소에서 얻기도 쉬운 라왕 톱밥을 공시하기로 하였다.

Table 2. Linear growth of the fungus strains on the 4 kinds of media in the cultural tubes unit: cm

Fungus strain	Age of cultures	5 days				10 days				15 days			
		P	Q	R	Z	P	Q	R	Z	P	Q	R	Z
P-1		1.0	0.6	1.0	0.5	2.9	3.0	3.0	2.2	5.3	5.5	7.0	5.0
P-2		0.2	1.0	1.5	0.4	2.0	3.4	3.4	1.6	4.0	5.6	6.0	3.8
P-3		0.0	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0	1.3	0.0	0.0	0.0	3.2	0.0
P-4		0.3	0.7	0.8	0.0	2.0	2.6	2.4	0.0	4.0	5.9	5.2	0.0
P-5		1.5	1.4	1.1	0.6	3.6	4.1	3.6	1.8	6.0	5.5	7.0	3.5
P-6		0.1	0.4	0.7	0.0	2.0	2.6	2.5	0.1	4.0	5.6	4.9	0.2
F-1		0.0	0.0	0.2	0.0	0.1	0.0	1.6	0.0	2.0	0.0	3.2	0.0
F-2		0.0	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0	0.2	0.0	0.0	0.0	0.2
L-1		0.5	0.2	0.4	0.1	1.5	1.2	1.7	1.0	2.9	3.4	3.8	1.5
L-2		0.3	0.2	0.5	0.0	1.8	1.0	2.0	0.0	3.1	2.7	3.7	0.0
L-3		0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
A-1		0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	2.0	0.0

* : P, Q, R and Z are saw dust media of Pine, Quelcus, Rawan and Zekowa, respectively.

공시균 P-1을 라왕 톱밥 배지에서 발효시켜 배지의 성분 소장 관제를 보면 표 3과 같았다.

즉 라왕나무 톱밥 배지는 *Pleurotus ostreatus* P-1에 의하여 lignin이 36.88%에서 18.65%로 분해되었으며 단백질은 라왕나무 톱밥의 것과 미강의 것을 합친 3.01%에서 이 균의 분해 및 합성작용으로 3.97%로 증가되었다.

이 공시균의 작용으로 결국 lignin 분해는 처음 라왕나무 톱밥의 lignin의 49%가 분해 감소되었고 조단백질은 라왕나무의 것과 미강의 것을 합친 전 단백질의 26%가 증가하였다.

고 찰

톱밥은 상당한 양이 우리나라에서도 부산물로 생산되는데 현재는 거의 연료로 이용되고 있다. 보통 일년생 초본식물은 가축 사료로 잘 이용되지만, 같은 식물성이지만 다년생인 목재의 목질부는 가축 사료로서 이용되지 못하고 있다. 그 중요한 이유는 목질부에는 lignin이 20~30% 함유되고 있으며 이 lignin이 가축의 소화 효소로서는 분해되지 않기 때문이다. 그런데 목재 부후균 중에는 이 lignin을 잘 분해할 수 있는 효소를 생산하는 것이 알려져 있으며 (Cowling

Table 3. Percentage weight changes of lignin and crude protein contents of rawan medium following fermentation by *Pleurotus ostreatus* P-1.

Content	% weight based on absolute wt. before fermentation.	% weight based on absolute wt. after fermentation	% weight changes before and after fermentation.
Lignin	36.88	18.65	49%
Crude protein	3.01	3.79	26%

1961; Gottlieb and Pelczar, 1950; Greaves, 1971; Higuchi, 1954; Kirk and Kelman, 1965; Pelczar et al., 1950; Tono et al., 1968; Waksman and Hutchings, 1936), 특히 Cowling(1961)에 의하면 백부균(white-rot fungi)에는 lignin의 대부분을 분해시킬 수 있다고 보고하였다. 본 실험에서도 *Pleurotus ostreatus*의 한 균주는 lignin의 약 49%를 분해시킬 수 있는 것을 선발할 수 있었고 또한 이 *P. ostreatus* P-1이 현저하게 조단백을 증가시킬 수 있다는 것을 보여 주었다. 표 3에서 볼 수 있는 바와 같이 목재의 조단백질과 쌀겨의 조단백질이 합쳐서 3.01%였던 것이 발효후 3.79%까지 증가하였는데 처음 조단백질에 비하면 약 26%의 증가를 보여 주었다. 여기서 조단백질의 N원은 역시 처음 배지의 NH_4NO_3 에서 유래되는 무기 N원으로 생각된다. 따라서 본 P-1균주는 대사회로에 TCA회로가 개재하며 유기산의 Ammination이 가능한 것으로 보인다. 앞으로 *Pleurotus ostreatus*에서 고성능인 것을 선발하고 또 인위적인 mutant를 유발한다고 하면 목재와 같이 사료로 이용되지 않는 식물성 자원을 사료화할 수 있다고 믿어지며 우리나라와 같은 여건에서도 축산의 장려가 가능하리라 생각된다.

적 요

우리나라 담자균류 12균주 중 톱밥의 lignin을 잘 분해하는 균주 *Pleurotus ostreatus* 1주를 선발할 수 있었다. 이 균주는 톱밥에 20%의 미강을 첨가하고 보통배지에 첨가되는 무기염을 첨가하면 30°C에서 30일이면 lignin의 49%를 분해할 수 있었고 다시 무기 N을 단백질로 전환시킬 수도 있으며 여기서 단백질 증가율은 26%였다.

References

Adler, E. (1961): Recent studies on the structural elements of lignin. *Pap. Puu.* 43: 634-

42

Cowling, E. B. (1958): A review of literature on the enzymatic degradation of cellulose and wood. *U.S. Dept. Agr. For. Ser. Rep.* No. 2116.
 Cowling, E. B. (1960): Methods for the chemical analysis of decayed wood. *U.S.D.A. Forest Serv. Forest Prod. Lab. Rep.* 2177. 24p.
 Cowling, E. B. (1961): Comparative biochemistry of the decay of sweetgum sapwood by white-rot and brown-rot fungi. *USDA Tech. Bull.* 1258. 79pp.
 Cottlieb, S., W. C. Day, and M. J. Pelczar (1950): The biological degradation of lignin. I. The adaptation of white rot fungi to growth on lignin media. *Phytopathology* 40: 926-35.
 Greaves, H. (1971): The effect of substrate availability on cellulolytic enzyme production by selected wood-rotting microorganisms. *Aust. J. Biol. Sci.* 24: 1169-80.
 Higuchi, T. (1954): Decomposition of lignin by wood-rotting fungi (in Japanese). *Bull. Nagoya Reg. Forest Off.* 6: 134-148
 Kirk, T. K. and A. Kelman (1965): Lignin degradation as related to the phenoloxidases of selected wood-decaying Basidiomycetes. *Phytopath.* 55: 739-45
 Kirk, T. K., and E. Adler (1970): Methoxyl-deficient structural elements in lignin of sweetgum decayed by a brown rot fungus. *Acta. Chem. Scand.* 24: 3379-3390.
 펄프材分析試驗方法 專門委員會 (1961): 펄프材의 리그닌試驗方法. 日本規格協會. JIS. p.8008
 Pelczar, M. J. Jr., S. Cottlieb, and W. C. Day (1950): Growth of *Polyporus versicolor* in a medium with lignin as the sole carbon

Lee : Microbial Treatment of Saw Dust for Animal Food

source. *Arch. Biochem.* 25: 449-51.

Tono, T., Y. Tani, and K. Ono (1968): Microbial treatment of agricultural industrial wastes I. Adsorption of lignins and clasification of lignin-containing liquor by molds. *J. Fer-*

ment. Technol. 46: 569-576.

Waksman, S. A., and I. J. Hutchings (1936)
Decomposition of lignin by microorganisms
Soil Sci. 42: 119-130.