

셀룰로오스 및 Plant Biomass의 효소적 가수분해

金東涓* · Ortwin Bobleter · Günther Bonn

오스트리아 인스부르크대학교 방사화학연구소
(1985년 7월 11일 접수, 1985년 9월 28일 채택)

Enzymatic Hydrolysis of Cellulose and Plant Biomass

Dong Won Kim*, Ortwin Bobleter and Günther Bonn

*Institute of Radiochemistry, University of Innsbruck
Innrain 52a, A-6020 Innsbruck, Tirol, Austria*

(Received 11 July 1985; accepted 28 September 1985)

요 약

여러 종류의 셀룰로오스 및 plant biomass의 효소에 의한 가수분해에 대하여 논의하였다. *Trichoderma viride*, cellulase에 의한 이들 물질의 가수분해는 0.15 M, pH 5.0, 아세트산 완충용액에서 50°C로 이루어졌다. 또한 가수분해의 최적조건은, 100 mg 셀룰로오스에 대하여 25 mg의 셀룰라아제 및 반응시간에 있어서 72시간임을 발견하였다. 실험을 통하여 얻은 글루코오스의 최대수율은, cellulose native에 대하여 반응시간 72시간에서 % saccharification으로써 82.7%였다.

Abstract — This paper deals with the enzymatic hydrolysis of different kinds of celluloses and plant biomasses. The enzymatic hydrolysis of these materials by a complete cellulase from *Trichoderma viride* were carried out in the 0.15M acetate buffer solution at pH 5.0, 50°C.

The optimum hydrolysis conditions of cellulose were found 25 mg cellulase, from *Trichoderma viride* for 100mg cellulose and 72 hours. The maximum yield of glucose for cellulose native from these experiments was 82.7% in per cent saccharification for 72 hours.

1. 서 론

Biomass, 예를 들면 나무나 풀, 혹은 보리짚 따위의 셀룰로오스를 포함하고 있는 물질을 분해하여, 그것으로부터 새로운 에너지를 얻는 연구는 많은 사람들에게 의하여 수행되고 있다.

Bobleter와 그의 공동연구자들은[1-5] hydrothermolysis로 셀룰로오스를 분해하여 글루코오스를 얻고, 그것을 알코올로 만드는 연구를 하였다. 그

들은 순수한 물만을 사용하여, 높은 압력하에서 265°C의 높은 온도으로써 셀룰로오스를 분해하여 52% 이상의 글루코오스를 얻는데 성공하였다.

Eriksson 및 그외의 과학자들은[6-8] micro fungi를 사용하여 나무나 셀룰로오스를 분해시키는 연구를 하였으며, Bellamy[9], Spicer[10] 및 그외의 과학자들은[11-12] waste cellulose로부터 single cell protein을 얻는 연구를 하였다. 그리고 그들은 또한 micro fungi를 사용하여, 전분이나 succrose

* 현주소 : 충북대학교 자연과학대학 화학과

혹은 락토오스로부터 단백질을 얻거나, 또는 waste cellulose의 효소에 의한 가수분해를 통하여 microbial protein을 얻는 연구를 하였다. Ghose와 그의 공동연구자들은[13] cellulosic substance를 효소에 의하여 가수분해하고, 그의 mechanism과 분해생성물에 대한 연구를 하였다. 그리고 Mandels와 그의 공동연구자들은[14, 15] 나무나 종이들을 셀룰라아제를 사용하여 가수분해시켜 환원당을 얻는 연구를 하였다. 이와 같은 모든 연구들은 biomass를 이용하여 에너지원이나 식량원을 얻는 것이라고 생각할 수 있다.

본 연구의 목적은 셀룰로오스의 가수분해에 의하여 생성되는 글루코오스의 양과 셀룰라아제의 양 및, 가수분해 시간과의 관계를 알아보는 데 있다. 그렇게 하므로써, 가수분해의 최적조건을 찾아내어, plant biomass를 효과적으로 가수분해하는데 본 연구의 목적이 있다.

2. 실험

2-1. 기기 및 시약

가수분해에 의하여 생성되는 글루코오스의 정량 분석에는, ALTEX, Model 110A, Waters Associates, HPLC를 사용하였고, 가수분해 실험에는 Sorvall OTD-65, Du Pont Instrument, Ultra Centrifuge, Heraeus Christ GMBH, Centrifuge 및 Gerhardt SW20, Schüttelwasserbad를 사용하였다.

시약은 모두 Merck 제 분석용으로써, CH_3COOH , CH_3COONa , CH_3CN , $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ 및 *Trichoderma viride*, cellulase를 실험에 사용하였다. Worthington™, USA로부터 *T. Viride* cellulase를 구입하였다. 실험에는 여러종류의 셀룰로오스를 사용하였는데, Merck 회사의 cellulose native, cellulose microcrystalline과 Schleicher and Schüll GMBH의 cellulose의 powder였다. 그리고 hemicellulose는 Lenzing 회사의 분석용 시약이었다. 글루코오스의 정량분석에 사용한 HPLC의 column은, HPX-87H, amino column 300×7.8mm I.D., Bio-Rad Labs., Richmond, CA, U.S.A로써, ion exclusion micro-guard cartridges가 부착된 것이었다.

2-2. 셀룰라아제의 가수분해

셀룰라아제 자체로부터 상호작용, 혹은 가수분해되어 생성되는 글루코오스의 양적인 관계를 알아 보는데 다음과 같은 실험을 하였다. 해당하는 양의 *T. viride*, cellulase를 각각 칭량하여 25ml들이 이중 마개를 한 폴리에틸렌 병에 넣었다. 그리고 8 ml의 0.15M CH_3COONa , pH=5.0 완충용액을 가하였다. 마개를 막고, Schüttelwasserbad에 넣은 다음, 온도를 50℃로 하여 48시간 천천히 흔들어 주면서 반응시켰다. 반응 종료 1분전에 6 ml의 증류수를 가하여, 전체 반응용액의 부피를 14ml로 했다.

48시간이 되면 반응용기를 꺼내어 급히 냉각고에 보관하였다. 반응도중 하루에 두번씩 폴리에틸렌 용기를 꺼내어 5초동안 손으로 흔들어 주었다.

일정한 양의 반응용액을 원심분리하고, 그 상등액을 취하여 HPLC로 글루코오스의 양을 정량분석하였다. 초원심분리기를 사용하여, 반응용액을 원심분리하였고, 원심분리조건은, 4℃, 30,000 rev/min로써 90분간이었다. 시간에 따른 글루코오스의 양을 알기 위하여서는 25mg의 셀룰라아제를 사용하였고, 가수분해시간은 4시간에서 168시간에 걸쳐 행하였다.

2-3. 셀룰로오스의 가수분해

셀룰라아제양과 셀룰로오스양의 글루코오스 생성에 미치는 영향을 알아보기 위하여서, 다음과 같은 실험을 행하였다.

100mg의 셀룰로오스를 칭량하여 25ml들이 폴리에틸렌 병에 넣고 해당하는 양의 *T. viride*, cellulase를 각각 1mg에서 3000mg에 걸쳐 넣었다. 그리고 2-2와 같은 방법으로 셀룰로오스를 가수분해시켰다. 반응시간은 48시간이었다. 시간에 따른 가수분해 생성물의 영향을 알아보기 위한 실험은 다음과 같이 하였다. 100mg의 셀룰로오스를 칭량하고, 거기에 25mg의 셀룰라아제를 가하여, 위와 동일한 방법으로 셀룰로오스를 가수분해하였다. 다만, 가수분해 시간을, 4시간에서부터 168시간에 걸쳐 각각 달리한 것이 다를 뿐이다.

실험에 사용한 셀룰로오스는 cellulose native였다.

2-4. 셀룰로오스 및 Plant Biomass의 가수분해

Cellulose native, cellulose microcrystalline, cellulose powder 및 hemicellulose를 각각 100mg씩 칭량하여, 25ml 들이 폴리에틸렌병에 넣고, 여기에 25mg의 셀룰라아제를 넣었다. 가수분해실험은 2-2의 방법에 따라하였으며, 생성된 글루코오스의 정량분석도 2-2의 방법에 따라하였다. 풀, 클로우버, 보리짚, 옥수수대, 솜 및 나무등의 셀룰라아제에 의한 가수분해는 다음과 같이 하였다. 모든 시료들은 약 1cm의 길이로 잘라서 오븐속에서 50°C로 약 12시간 건조시켰다. 수분의 함량은 5% 내외였다.

나무나, 종이의 경우는 길이 1cm, 폭 2-3mm의 크기로 잘랐다. 모든 시료의 양은 100mg, 셀룰라아제의 양은 25mg이하로, 2-2와 같은 방법으로 가수분해하였고, 가수분해에 의해 생성된 글루코오스의 정량분석도 2-2와 동일한 방법으로 하였다. 다만 반응용액의 원심분리는 초원심 분리를 하지 않고, Heraeus Christ GMBH Centrifuge를 사용하여, 상온에서 3000rev/min으로 10분간 하였다. 실험에 사용한 셀룰라아제는, *T. viride*로부터 얻은 cellulase였고, 가수분해시간은 각각 4, 8, 24, 48 및 72시간으로 하였다.

2-5. 글루코오스의 정량분석

ALTEX, Model 110A, Waters Associates, HPLC를 글루코오스의 정량분석에 사용하였다. HPX-87H amino column를 사용하였고, mobile phase 로써, 77% acetonitrile + 23% water를 사용하였고, flow rate는 2.0ml/min로 했다. % saccharification은 다음 식에 의하여 계산하였다[16].

% Saccharification

$$= \frac{\text{Glucose mg/ml}}{\text{Substrate mg/ml}} \times 0.9 \times 100 \quad (1)$$

2-6. Enzyme Activity[17-19]

본 실험에 사용한 셀룰라아제의 activity는 다음과 같은 방법에 의하여 측정하였다. 모든 cellulase의 activity는, *T. viride* cellulase 1mg에 대하여 생성되는 환원당의 mg수로 표시하였다.

i) Crystalline Activity

Microcrystalline cellulose, Avicel®, 50, 100mg에 셀룰라아제 25mg을 가하였다. 그리고 pH 4.8의 0.2M 아세트산 완충용액 8ml를 넣은 다음, 50°C에서 24시간 동안 가수분해시켜, activity를 구하였다. activity는 1.92이었다.

ii) Filter Paper Activity

Filter paper, Toyo, 100mg에 셀룰라아제 25mg을 가한 다음, pH 4.8인 0.2M 아세트산 완충용액 8ml를 넣고, 50°C에서 1시간 동안 가수분해시켰다. activity는 0.11이었다.

iii) CMC Activity

CMC 100mg에 셀룰라아제 25mg을 넣은 다음, pH 4.8인 0.2M 아세트산 완충용액 8ml를 가한 후, 50°C에서 30분간 반응시킨 다음, 생성된 환원당의 양을 측정하여 activity를 구하였다. CMC activity는 0.16이었다.

3. 결과 및 고찰

T. viride, cellulase는 분자량이 42,000이며 glycoprotein과 9.2%의 탄수화물로 되어 있다[20]. 그리고 이 셀룰라아제는 그들 스스로 상호작용하며, 셀룰로오스를 가수분해하는 여러 효소의 group으로써 이루어져 있다[21, 22]. 우리들이 사용한 효소인, *T. viride*, cellulase속에 스스로 포함되어 있는, 또는 이 효소가 스스로 상호작용, 혹은 가수분해하여 생성되는 글루코오스의 양을 알아본 결과가 Fig. 1에 나타나 있다. 그림에 나타나 있는 것처럼, 생성되는 글루코오스의 양은 셀룰라아제의 양에 비례하였다.

가수분해 시간은 48시간이었다. 이와같은 사실은, 셀룰라아제의 어느 특정한 부분만이 가수분해된다는 것을 알려주고 있는 것이다. *T. viride*, cellulase 자체의 가수분해에 의하여 생성되는 글루코오스를, 앞으로는 배경 글루코오스라 부르기로 한다. 배경 글루코오스의 생성이 가수분해 시간과 어떤 관계를 가지고 있는가를 알아보았다. *T. viride*, cellulase의 양을 25mg이하였을 때의 실험 결과가 Fig. 2에 그려져 있다. 그림에서 볼 수 있는 것처럼 가수분해시간이 96시간을 초과할 때는, 배경글루코오스의 생성량은 거의 일정하다. 이와같은 사

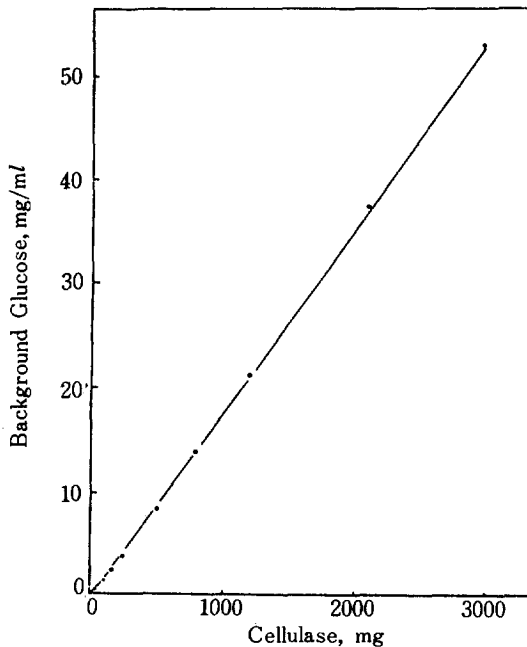


Fig. 1. The influence of a complete cellulase from *T. viride* on the background glucose producing by the hydrolysis.

Buffer solution; 0.15M, $\text{CH}_3\text{COONa}-\text{CH}_3\text{COOH}$, pH=5.0, Reaction temperature; 50°C, Reaction time; 48hrs.

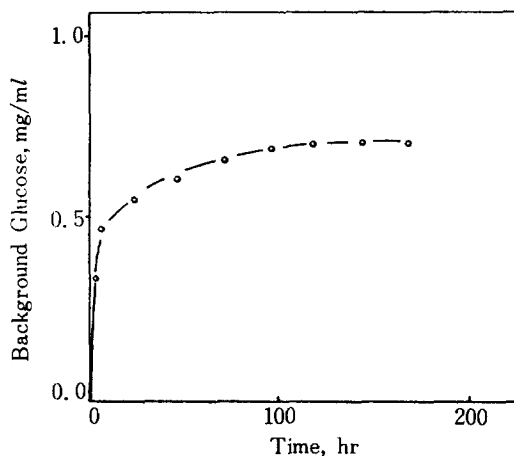


Fig. 2. The influence of the hydrolysis time on the background glucose producing by the hydrolysis of a complete cellulase from *T. viride*.

Buffer solution; 0.15M, $\text{CH}_3\text{COONa}-\text{CH}_3\text{COOH}$, pH=5.0, Reaction temperature; 50°C, *T. viride*, cellulase; 25mg.

실은, 96시간 이내에 셀룰라아제의 가수분해가 거의 완결됨을 말해주고 있는 것이다.

효소 촉매반응의 속도는, 보통 효소농도에 비례한다. 그러나 기질 농도에 따르는 변화는, 낮은 농도하에서는 속도가 기질농도와 직선적으로 변하고, 고농도에서는 기질농도에 무관하다는 것이 일반적으로 알려진 사실이다. 기질로써 셀룰로오스를 택하고, 효소로써 *T. viride*, cellulase를 택하여, 셀룰라아제의 양의 변화에 따른 글루코오스의 생성량의 영향을 알아보았다. 실험결과가 Fig. 3에 나타나 있다. 셀룰로오스의 양은 100mg으로써 일정량 취하였다. 그림에서 볼 수 있는 것처럼, 셀룰라아제의 양이 1200mg을 넘을때는 글루코오스의 양의 증가가 일정해지는 것을 알게 된다. 그러나 셀룰라아제의 양이 셀룰로오스의 양에 비하여 상대적으로 작을 때는, 셀룰로오스의 가수분해에 의하여 생성되는 글루코오스의 양은 셀룰라아제의 양에 비례한

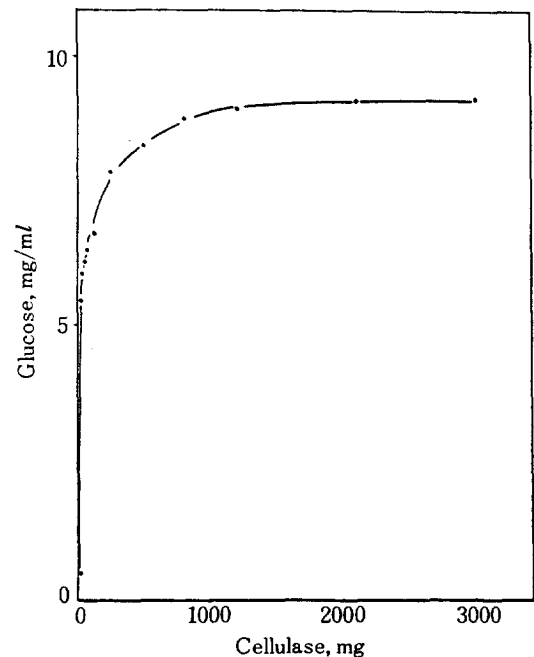


Fig. 3. The influence of a complete cellulase from *T. viride* on the glucose producing by the hydrolysis of cellulose native.

Buffer solution; 0.15M, $\text{CH}_3\text{COONa}-\text{CH}_3\text{COOH}$, pH=5.0, Reaction temperature; 50°C, Reaction time; 48hrs, Cellulose native; 100mg.

다는 것을 알 수 있다 즉 그림에서 볼 수 있는 것처럼, 셀룰로오스 100 mg에 대하여 셀룰라아제를 1, 25, 50, 75 및 100 mg 사용하였을 때 생성되는 글루코오스의 양은 농도로 각각 0.59, 5.74, 6.47, 6.52 및 6.76 mg/ml 이다.

여기서 글루코오스의 양은, 가수분해에 의하여 생성되는 전체 글루코오스의 양에서 배경글루코오스의 양을 뺀 값이다. 셀룰라아제를 셀룰로오스 100 mg에 대하여 1 mg 사용하였을 때는 글루코오스는 0.59 mg/ml 생성되었고, 이때의 % saccharification은 7.4%였다. 그러나 셀룰라아제를 25mg 사용하였을 때는, 생성되는 글루코오스는 5.74 mg/ml, 즉 72.4%의 % saccharification을 보여준다. 거의 10배의 값이다. 그러나 셀룰라아제의 양이 250mg 이상이 되면, 가수분해에 의해서 생성되는 글루코오스의 양은 거의 일정하게 되고, % saccharification의 값은, 1200 mg의 셀룰라아제 이상에서는 94.8

%에 이르고, 일정하게 된다. 이와같은 현상은 효소촉매 반응의 메카니즘을 연구하여야 설명가능한 것으로 여겨지며, 앞으로 연구되어야 할 것으로 생각된다.

생성된 글루코오스의 양을, 가수분해에 사용된 셀룰라아제의 양으로 나눈 값을 specific glucose라고 부르기로 한다.

$$\text{Specific Glucose, ml}^{-1} = \frac{\text{Glucose, mg/ml}}{\text{Cellulase, mg}} \quad (2)$$

specific glucose의 셀룰라아제 양에 대한 변화를 Fig. 4에 그려 놓았다. 셀룰라아제의 양이 증가함에 따라 specific glucose의 양은 급격하게 감소함을 볼 수 있다. 100 mg의 셀룰로오스에 대한, specific glucose의 값은 1 mg의 셀룰라아제에 대하여 0.59 ml^{-1} , 25mg의 셀룰라아제에 대하여서는 0.23 ml^{-1} 임을 볼 수 있다. 그리고 50mg의 셀룰라아제에 대하여서는 0.12 ml^{-1} 에 불과함을 볼 수 있다. 그 이상의 셀룰라아제에 대한 specific glucose의 값은 매우 작아서 250mg 셀룰라아제 및 3000mg 셀룰라아제에 대하여, 각각 0.033 및 0.004 ml^{-1} 에 지나지 않음을 볼 수 있다. 따라서 100mg의 셀룰로오스를 가수분해할 때 가장 효과적인 *T. viride*,

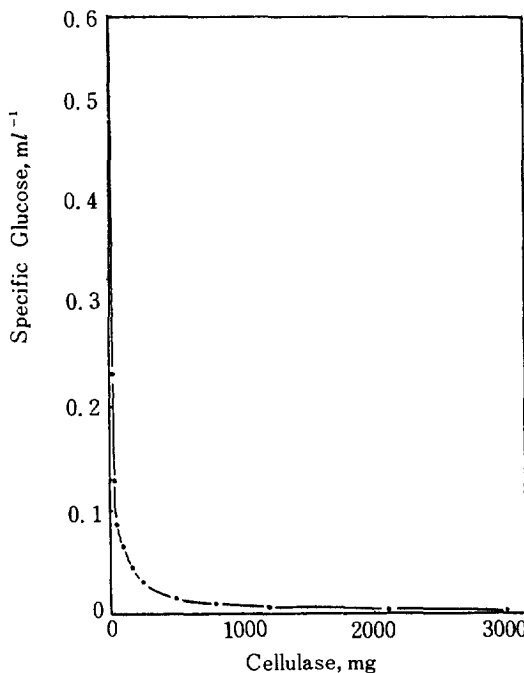


Fig. 4. The influence of specific glucose on the complete cellulase from *T. viride* by the hydrolysis of cellulose native.

Buffer solution; 0.51M, $\text{CH}_3\text{COONa}-\text{CH}_3\text{COOH}$, pH=5.0, Reaction temperature; 50°C , Reaction time; 48hrs, Cellulose native; 100mg.

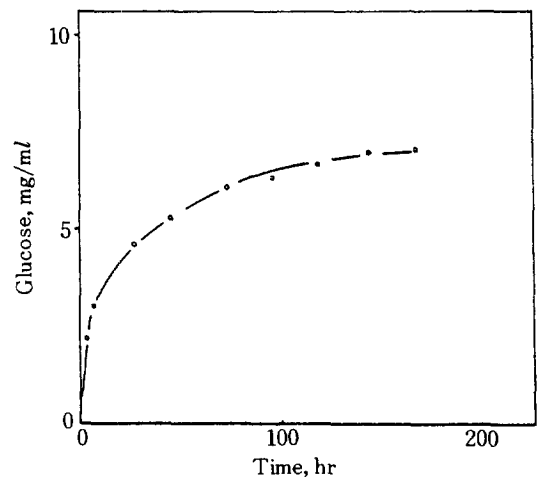


Fig. 5. The influence of the hydrolysis time on the glucose producing by the hydrolysis of cellulose native.

Buffer solution; 0.15M, $\text{CH}_3\text{COONa}-\text{CH}_3\text{COOH}$, pH=5.0, Reaction temperature; 50°C , Cellulase; 25mg, Cellulose native; 100 mg.

cellulase의 양은, 25mg임을 알 수 있다. 1mg의 셀룰라아제와 25mg의 셀룰라아제에 대하여 specific glucose의 값은 각각 0.59 및 0.23ml^{-1} 로써, 약 1/2로 그 값이 25mg의 셀룰라아제에 있어서 줄어 들고 있으나, % saccharification의 값은 7.4%에서 72.4%로 약 10배 증가하기 때문이다.

가수분해 시간과, 가수분해에 의하여 생성되는 글루코오스양과의 관계를 나타낸 그림이 Fig. 5에 있다. 그림을 통하여 볼 수 있는 것처럼, 72시간 이후에 생성되는 글루코오스의 양은, 매우 조금씩 증가할 뿐이다. 72시간에서 % saccharification의 값은 78.5%이나, 168시간 후에는 다만, 89.4%로 증가할 뿐이다.

이상과 같은 연구를 통하여, 우리들은 셀룰로오스를 가수분해하여 글루코오스를 얻는데 있어서 최적의 조건은, 셀룰로오스 100mg에 대하여, 25mg의 셀룰라아제, 그리고 가수분해시간은 72시간임을 알 수 있었다. 가수분해 온도는 50°C 였고, 가수

분해에 필요한 완충용액은 0.15M, $\text{CH}_3\text{COONa}-\text{CH}_3\text{COOH}$, $\text{pH}=5.0$ 이었다. 이와같은 조건으로, 여러종류의 셀룰로오스 및 plant biomass를 가수분해한 결과가 Fig. 6~Fig. 11에 걸쳐 그려져 있다. 여러종류의 셀룰로오스의 가수분해에 있어서, 글루코오스의 시간에 대한 관계가 Fig. 6에 나타나 있다. 가수분해가 가장 잘 되는 것은 cellulose native이며, 가장 잘 안되는 것은 cellulose powder임을 알 수 있다. cellulose microcrystalline은 cellulose native보다 가수분해가 잘 되지 않음을 볼 수 있다. 이와같은 사실은 셀룰로오스의 높은 결정도가 가수분해를 억제한다는 것을 알려주고 있다. 셀룰로오스가 불용해성이든지, high degree of crystallinity를 갖든지, 불순물과의 혼합물을 형성하든지, 혹은 효소의 glycosidic bonds에의 접근을 제한하는 리그린 등을 포함하게 되면, 셀룰로오스의 효소에 의한 전환은 억제된다[16, 23].

cellulose native는 72시간 동안 가수분해되면,

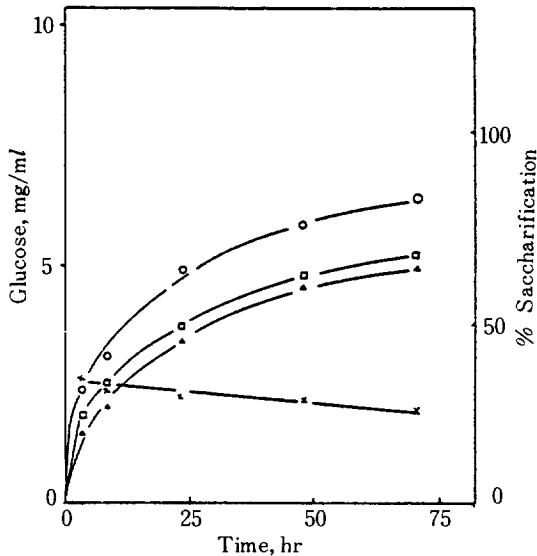


Fig. 6. Hydrolysis of insoluble cellulose by a complete cellulase from *T. viride*.

Cellulase; 25 mg, Cellulose; 100 mg, Buffer solution; 0.15 M, $\text{CH}_3\text{COONa}-\text{CH}_3\text{COOH}$, $\text{pH}=5.0$, Reaction temperature; 50°C , \circ ; Cellulose native for thinlayerchromatography, \square ; Cellulose microcrystalline, Avicel®, for thinlayerchromatography, \triangle ; Cellulose Powder, Schleicher and Schüll, X; Hemicellulose, Lenzing.

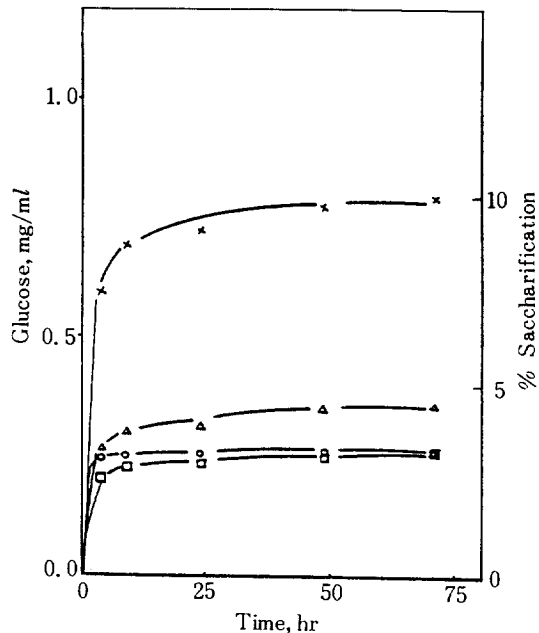


Fig. 7. Hydrolysis of various kernels and plants by a complete cellulase from *T. viride*.

Hydrolysis conditions are as Fig. 6, \circ ; Apricot, *Prunus armeniaca* kernel, \square ; Plum kernel, \triangle ; Peach, *Prunus persica* kernel, X; Cherry, *Prunus tomentosa* kernel.

82.7%의 높은 % saccharification 값을 갖게 된다. 그러나 hemicellulose는 이상한 변화를 한다. 가수분해시간이 증가함에 따라 오히려 생성되는 글루코오스의 양은 직선적으로 감소하기 때문이다. 이와 같은 사실은 앞으로 더 많은 연구를 통하여서만 설명되어질 수 있을 것이다. 48시간 후의 % saccharification 값은 cellulose native에 대하여 75.3 % cellulose microcrystalline, Avicel에 대하여 62.4 % 이다. 이 값은 동일한 시간에서 동일한 종류의 셀룰라아제를 사용하여 얻은 pure cellulose pulp, SW 40, Brown Comp.에 대한 38% 및, Avicel®에 대한 40% [16]보다 훨씬 큰 값이다. 여러종류의 과일핵과 풀 및 보리짚등에 대한 가수분해의 결과가 Fig. 7 및 Fig. 8에 그려져 있다.

Fig. 7에서 볼 수 있는 것처럼, 과일의 핵들은

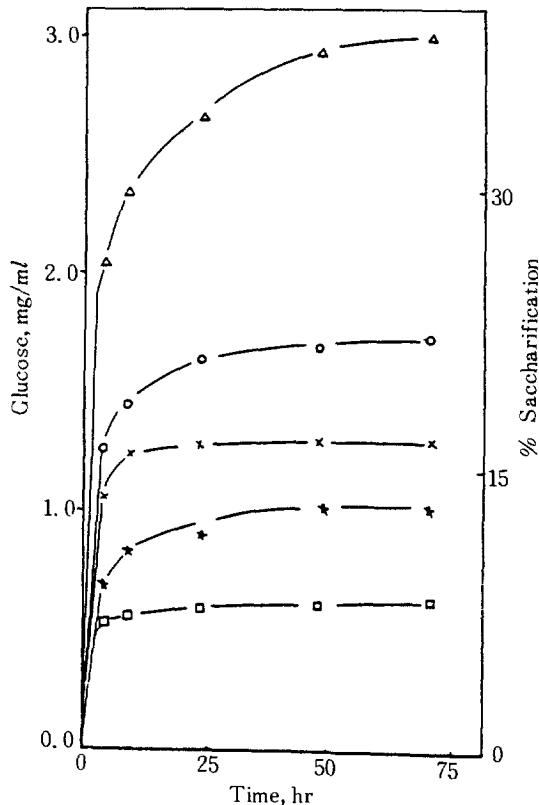


Fig. 8. Hydrolysis of various grasses and straws by a complete cellulase from *T. viride*.

Hydrolysis conditions are as Fig. 6,
○; Clover, □; Barley straw, X; Gras,
△; Indian corn stem, ☆; Wheat straw.

일반적으로 매우 작은 값의 % saccharification 을 갖고 있다. 서양 앵두씨가 그중에서 가장 큰 값을 갖고 있는데, 72시간 가수분해한 결과는 다만 그 값이 10.1%에 불과할 뿐이다. 이것은 앵두씨의 핵이 가장 부드럽기 때문인 것으로 여겨진다. 일반적으로 과일의 핵들은 8시간이 지난 후에는 가수분해가 거의 되지 않고 있다.

Fig. 8에는 여러 종류의 풀과 밀짚들에 대한 가수분해 결과가 그려져 있다. 이 중에는 옥수수대 가장 가수분해가 잘 되었고, 클로우버, 풀, 밀짚, 및 보리짚의 순서로 가수분해가 감소되었다. 72시간 가수분해한 후의 옥수수대의 % saccharification은 37.4%였다. 농작물의 줄기나 잎, 혹은 깎지 따위의 농업 쓰레기나 잔여물들의 조성이, 20~30%의 hemicellulose, 30~40%의 cellulose 및 5~10%의 리그닌 [24-26]이라는 사실을 감안한다면, 우리들이 얻은 % saccharification 값들은 대단히 큰 것

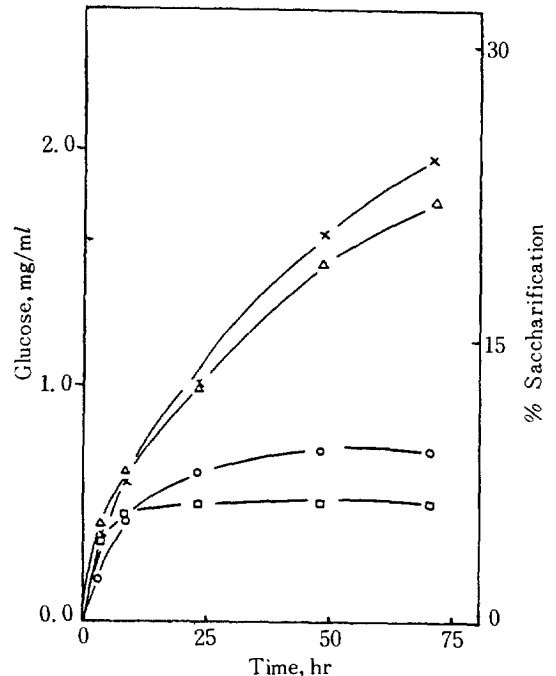


Fig. 9. Hydrolysis of various cottons by a complete cellulase from *T. viride*.

Hydrolysis conditions are as Fig. 6,
○; Cotton waste, fibrous,
□; Italian poplar bract, fibrous,
△; Pure cotton, white, fibrous,
X; Raw cotton, fibrous.

이라고 볼 수 있다. 옥수수대속에 포함된 셀룰로오스의 양을 최대라고 보고, 40%로 가정한다고 해도, 72시간 동안 가수분해한 후의 옥수수대에 대한 % saccharification 값은 셀룰로오스 함량 100%에 대하여 환산한다면, 93.5%에 해당하는 매우 큰 값이다. 이 값은 거의 완전한 셀룰로오스의 가수분해에 해당하는 값이다. 여러종류의 목화, 솜, 종이, 및 나무들의 가수분해의 결과가 Fig. 9, Fig. 10 및 Fig. 11에 나타나 있다.

Fig. 9에서 볼 수 있는 것 처럼, 면화와 순수한 솜을 72시간 동안 가수분해 하였을 때의 % sacc -

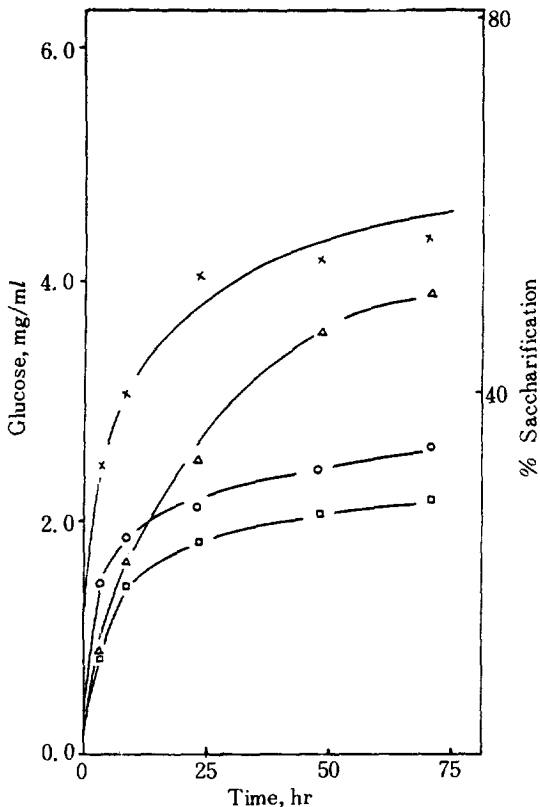


Fig. 10. Hydrolysis of various papers by a complete cellulase from *T. viride*.

Hydrolysis conditions are as Fig. 6,

- ; Copying paper, white, A-4, 80 GR/M₂,
- ; Note book paper, 80 g holzfei, Spanol, Ursus,
- △; Filter paper, Schleicher and Schüll, RFP, Marke Selesta, φ110 mm,
- X; Toilet paper, white, Holzer papiere, Greif zu.

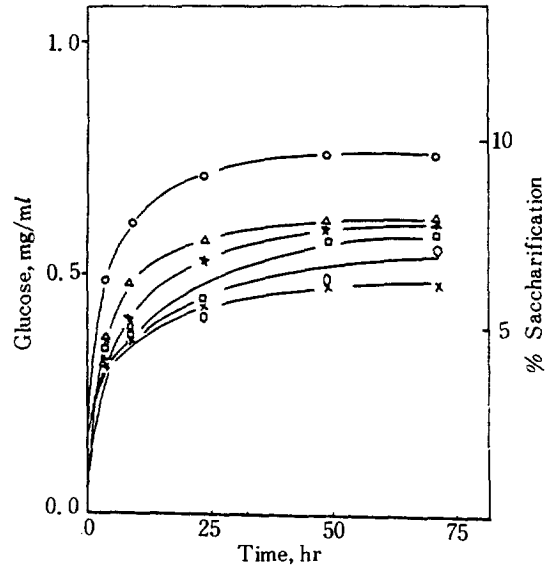


Fig. 11. Hydrolysis of various woods by a complete cellulase from *T. viride*.

Hydrolysis conditions are as Fig. 6,

- ; Willow, wood shavings,
- ; Cotton wood, Necklace poplar, powder,
- ; Cotton wood, Necklace poplar, wood shavings,
- △; Poplar, wood shavings,
- ☆; Spruce, powder,
- X; Spruce, wood shavings.

harification은, 각각 24.8% 및 22.7%이다. 그리고 48시간 동안 가수분해하였을 때의 값은 각각 21.1% 및 19.4%이다. 이 값은 동일한 셀룰라아제를 사용하여, 탈지면을 24시간 동안 가수분해 하여 Mandels가 얻은 % saccharification 값[16] 6.5%에 비하면 거의 3 배에 해당하는 값이다. 그것은, 가수분해 방법이 Mandels의 것과 달랐고, 또한 본 연구의 가수분해 방법이 좋았기 때문에 생겨난 결과가 아닌가 여겨진다.

솜겨개기와 이탈리아 포플라의 포를 사용하여 가수분해한 결과는, 면화와 순수한 솜에 비하면 매우 나쁘다. 그리고 이것들은 24시간이 지나면, 거의 가수분해되지 않음을 Fig. 9를 통하여 볼 수 있다. 그러나 면화와 순수한 솜은 시간이 경과함에 따라 가수분해도 증가하고 있음을 알게 된다. Fig. 10에는 여러종류의 종이에 대한 가수분해 결과가 그려져 있다. 화장지, 여과지, 복사용지 및 공책종이

순서로 가수분해에 의하여 생성되는 글루코오스의 양은, 화장지, 여과지, 복사용지 및 공책 종이에 대하여 각각 4.44mg/ml, 3.96 mg/ml, 2.68 mg/ml 및 2.21mg/ml 이었고, 이 양을 % saccharification 으로 환산하면 그 값은 56.0%, 49.9%, 33.8% 및 27.9%이다. 48시간동안 가수분해하면, 생성되는 글루코오스의 양은, 화장지, 여과지, 복사용지 및 공책종이에 대하여, 각각 4.20 mg/ml, 3.60 mg/ml, 2.48 mg/ml 및 2.12 mg/ml 이고, 이것을 % saccharification으로 환산하면, 52.9%, 45.4%, 31.3% 및 26.7%가 된다. 이값은 Mandels가 incomplete cellulase인 *Pestalotiopsis westerdizkii*, cellulase를 사용하여 얻은 값[16]보다 훨씬 큰 값이다.

Mandels는 위에 적은 셀룰라아제를 사용하여 Whatman No. 1 여과지, 신문종이 Sweco ball milled 및 hammer milled newsprint, NEP 40, Brown Co.를 48시간동안 가수분해하여, 각각 11.5%, 24.0% 및 6.5%의 % saccharification을 얻는데 그쳤다. 신문종이와 newsprint가 모두 분쇄된 시료 였다는 사실을 감안한다면, 우리들이 얻은 값은 매우 큰 값이다. 셀룰로오스를 기계적으로 분쇄하든지 혹은 용매로 미리 처리하면, 가수분해가 매우 잘 될 수 있기 때문이다[27-29].

T. viride, cellulase를 사용하여 hammer milled newsprint, NEP 40, Brown Co.와 Whatman No. 1 여과지를 48시간동안 가수분해하여 Mandels가 얻은 % saccharification의 값은, 각각 29.5%와 60.0%였다[16]. 마지막으로 여러종류의 나무에 대한 가수분해의 값들이 Fig. 11에 그려져 있다. 실험에 사용한 나무들이, 한결같이 작은 % saccharification 값을 갖고 있는데, 이것은 화학적인 전처리를 하지 않았기 때문이다. 우리들은, 실험에 사용한 모든 biomass에 대하여, 화학적인 혹은 기계적인 전처리를 하지 않았다. 그럼에도 불구하고, 매우 높고 성공적인 양의 글루코오스를 가수분해에 의하여 얻는데 성공하였다.

감 사

본 연구는, 오스트리아 정부의 저개발도상국 학자에게 주는 연구비로 이루어졌으며, 이에 대하여 오스트리아 정부에 감사한다.

REFERENCES

1. Bobleter, O. and Pape, G.: *Austrian Pat.*, **263**, 661 (1968).
2. Bobleter, O., et. al.: "Energy from Biomass", Applied Science Pub., London, 1981. p. 554.
3. Bobleter, O., et. al.: "Alternative Energy Sources", III. Vol. 3, Hemisphere Pub., Washington, D.C. 1983, p. 323.
4. Bobleter, O. and Bonn, G.: *Carbohydr. Res.*, **124**, 185 (1983).
5. Bonn, G., Concini, R. and Bobleter, O.: *Wood Sic. Technol.*, **17**, 195 (1983).
6. Eriksson, K.-E.: *Pure and Appl. Chem.*, **53**, 33 (1981).
7. Wilcox, W.W.: *Bot. Rev.*, **26**, 1 (1970).
8. Ander, P. and Eriksson, K.-E.: *Prog. Ind. Microbiol.*, **14**, 1 (1978).
9. Bellamy, W.D.: *Biotechnol. Bioengng.*, **16**, 869 (1974).
10. Spicer, A.: *Tropical Sci.*, **13**, 239 (1971).
11. Gregory, K.F., et. al.: *Food Technol.*, **30** (1976).
12. Hatakka, A. and Anttonen, E.: Proceedings of the 2nd Int. Meeting on Biophysics and Biotechnology in Finland, Edited by A.-L. Karianto et. al., 1976. p. 99.
13. Ghose, T.K. and Bisaria, V.S.: *Biotechnol. Bioengng.*, **11**, 131 (1979).
14. Mandels, M., et. al.: *J. Polym. Sci., Part C*. No. 36, 445 (1971).
15. Mandels, M., Hontz, L. and Nystrom, J.: *Biotechnol. Bioengng.*, **16**, 1471 (1974).
16. Mandels, M. and Sternberg, D.: *J. Ferm. Technol., Japan*, **54**, 267 (1976).
17. Mandels, M., Hontz, L. and Nystrom, J.: *Biotech. & Bioengng.*, **XVI**, 1472 (1974).
18. Ghose, T.K. and Bisaria, V.S.: *Biotech. & Bioengng.*, **XXI**, 133 (1979).
19. Toyama, N. and Ogawa, K.: *Biotech. & Bioengng. Symp.*, **5**, 227 (1975).
20. Berghem, L.E.R., Pettersson, L.G. and Axio-Fredriksson, U.-B.: *Eur. J. Biochem.*, **53**, 55 (1975).
21. Whitaker, D.R.: In "The Enzymes", Vol. V,

- P.D. Boyer Ed., Academic Press, New York, 1971, p. 273.
22. Emert, G.H., et. al.: "Advances in Chemistry", Series 136, J.R. Whitaker Ed., Am. Chem. Soc., Washington, D.C., (1974).
23. Cowling, E.: *Biotechnol. Bioeng. Symp.*, 5 (1975).
24. Lechtenberg, V.L., et. al.: *J. Agronomy*, 64, 657 (1972).
25. Ramadhan, A.E., et. al.: *Crop. Sci.*, 16, 387 (1976).
26. Casey, J.P.: Pulp and Paper, "Chemistry and Chemical Technology", I. Interscience. New York, 1960.
27. Ladisch, M.R.: *Progress Biochem.*, 14, 1, 21 (1979).
28. Lipinsky, E.S.: In Adv. Chem. Ser., R.R. Brown, and L. Jurasek Ed., ACS. Washington, D.C. 1979, No. 181, pp. 1-24.
29. Millet, M.A., Baker, A.J. and Satter, L.D.: *Biotechnol. Bioengng. Symp.*, 1976, 6, pp. 95-124.