

## 톱밥가루의 加水分解에 의한 糖生産

김동우 · 조광연 · 배국웅

중경공업전문대학 식품공업과  
(1982년 7월 5일 수리)

## Hydrolytic Conversion of Sawdust into Metabolizable Sugars

Dong woo Kim, Kwang yun Cho and kook Woong Bae

Dept. of Food Technology, Joong Kyung Junior College

(Received July 5, 1982)

### Abstract

The hydrolytic conversion of sawdust was studied by sulfuric acid-enzymatic and sodium hydroxide-enzymatic treatments.

Sugars were identified by paper chromatography and quantified colorimetrically.

Sawdust yielded dextrose and xylose in concentrations ranging from 3.01 to 3.64 and 3.48 to 6.61 grams per 100g.

Under optimum conditions, the total concentration of sugars was 10.7 grams per 100 grams.

### 서 론

현재 인류가 직면하고 있는 문제점중 가장 심각한 것은 인구증가에 따른 식량부족, 환경오염, 에너지 부족등이며 이러한 것들은 시급히 해결되어야 할 것이다. 이중 특히 식량이나 동물사료로서 이용될 수 있는 새로운 영양자원의 개발은 중요한 과제이며 근래 농산 부산물 및 산업 폐기물로부터의 천연섬유소가 새로운 관심을 끌어들였다.

여기에 관한 일차적인 관심들은 어떻게 하면 이들 천연섬유소를 인간이 소화할 수 있는 구성당으로 전환시킬 수 있느냐에 집중되어 왔다.

일찍이 Kressman<sup>1)</sup>은 천연섬유소인 나무를 당으로 가수분해시킨 결과를 보고 하였었다. 또한 Saeman<sup>2)</sup>은 순수한 셀룰로오스를 약산과 강산의 처리로서 완전히 당으로 분해시키기도 했으며 Reese<sup>3)</sup>은 작용의 특수성 때문에 보다 많은 관심을 끌어난 효소의 가수분해에 대한 많은 연구들을 발표하였다.

그러나 이 가수분해된 셀룰로오스의 분해당에 대한 직접적 식품 사료등으로서의 이용은 아직도 관

심이 모아지고 있지는 않다.

Sinclair<sup>4)</sup>은 전분의 가수분해는 글루코오스의 농도로서 40%까지의 분해가 가능하다는 연구가 있으나, 섬유소에 있어서는 최대 분해 농도를 연구자에 따라 5%~17%<sup>5-8)</sup>를 벗어나지 못하고 있는 실정이다.

본 실험에서는 효소와 산, 알카리 처리에 의하여 천연 셀룰로오스로부터 식량과 사료로서의 가치가 있는 당생산에 대한 몇가지 실험을 행하고 이로 부터 얻어진 실험 결과를 보고하는 바이다.

### 재료 및 방법

#### 1. 기 질

충남 대전근교에서 생육한 수종 5~10년 생의 이태리 포플러(*Populus enramericanguiner*)를 mechanical plane으로 절단하여 Sawdust를 만들고 이를 105°C에서 5시간 전조후 Willymill과 Ball mill로 아쇄하여 60mesh의 입자로 실험에 사용하였다.

이때 기질의 성분분석은 다음과 같았으며 cellulose, lignin, alcohol-benzene extract는 TAPPI의 방법<sup>9)</sup>에 의해 분석하였으며 기타는 상법에 따랐다.

General compositions of biomass

Speciman	Moisture	Crude protein	Crude fat	Cellulose	Lignin	Ash	Alcohol-benzene extract	Hot water soluble substrate
Ital. T.	9.5	1.2	1.7	65.5	27.1	1.5	7.5	3.9

\* crude cellulose : cellulose + hemicellulose

2. 셀룰라아제 생산

Aspergillus niger(IFO 4043)의 균주로 밀기울 배지를 사용하여 28°C에서 7일간 배양한후 코오지를 만들고, 이 코오지량 6배의 0.05M, PH 4.8 citrate buffer를 가하여 효소를 침출시키고, 여과를 하였다.

그 여액은 10,000g에서 20분간 원심분리 하여 침전물을 버리고, 상등액은 4°C의 냉장고에 보관하여 본 실험의 효소액으로 사용하였다.

이 때의 효소역가는 β -glucosidase ; 0.6unit/ml, C<sub>1</sub> ; 0.04 unit/ml, CMC ; 0.11unit/ml이었다.

3. 산과 알카리 가수분해

수욕조에서 reflux장치를 하여 1,2,3각각의 시간에 대한 함수로서 50°C에서 수행하였다.

각 경우마다 시료 5g을 각각 15%, 20%, 25%의 황산용액 100ml에 현탁시켰으며, 여과는 gooch crucible로, 중화는 10% Ba(OH)<sub>2</sub>로 하였다.

또한 알카리 가수분해도 농도만 다를 뿐 같은 방법에 준해 실험하였다.

4. 효소 가수분해법과 효소역가 측정

산과 알카리처리가 끝난후에 효소처리는 기질로부터 다시 불순물을 제거하기 위해 중류수로 여러 번 세척하였고 1 M HCl를 이용하여 pH를 5.0으로 조정하였다.

효소처리후 효소 불활성화는, 80°C에서 15분간으로 수행하였다.

각 실험처리에 있어서 기질농도는 1% 이었으며 효소 역가는 다음의 방법에<sup>3,5,6</sup> 따라 환산하였다.

1) C<sub>1</sub>의 역가

Whitman NO. 1 Filter paper를 1 × 6 cm의 크기로 하여 시험관에 0.5ml의 enzyme, 1.0ml의 buffer에서 50°C 1시간 작용시킨후 DNS 3ml를 첨가하고 비등액속에서 5분간 처리한후 생성된 환원당을 비색 정량하였는데 (spectronic 20A, Bausch & Lomb), 표준물질로서는 글루코오스를 사용하였다.

2) Cx 역가

carboxy methyl cellulose(Sigma Co.) 1% 용액 0.5ml에 효소액 0.5ml를 넣고 30분간 작용시킨후 상기와 같은 방법으로 측정했다.

3) β -glucosidase 역가

salicin (Wako Co.) 1%용액을 상기 Cx역가와 같은 방법에 따라 측정했다.

5. 셀룰로오스의 분해도 측정

Matron에 의해 개선된 Crampton-Maynard에 따랐으며 처리전과 처리후의 셀룰로오스 무게의 차를 가수분해된 셀룰로오스의 양으로서 계산하였다.

6. 당의 정량

Whatman NO. 1 filter paper를 이용하여 butanol : acetic acid : water (4 : 1 : 1)의 용매계에서 일차원 상승법으로 전개시켰으며,<sup>11)</sup> aniline phthalate로서 발색시켰다.

5 탄당과 6탄당의 정량은 처리액 1ml에 Phenol-sulfuric acid reagent (1ml of phenol and 5ml of conc. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)를 가하여 490 nm에서의 흡광도(O. D.)를 6탄당, 480 nm에서의 흡광도(O. D.)를 5 탄당으로 각각 정량분석하였다.

결과 및 고찰

1. 효소의 최적반응 온도

효소의 최적 반응온도를 알기 위하여 water bath에서 10분간 효소와 기질을 반응시켰다. 이에 따른 상대적 환원당량은 Fig. 1.과 같은 결과를 나타냈으며 즉 50°C에서 가장 높은 역가를 보였으므로 효소 가수분해시 이를 고려 실험을 수행하였다.

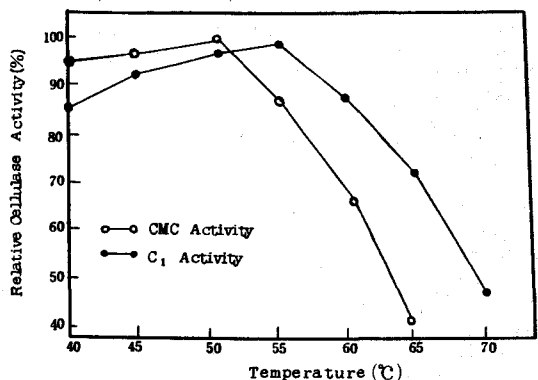


Fig. 1 Effect of temperature on the activity of C<sub>1</sub>, CMC cellulase (add half ml of the enzyme to 50mg of filtrate for 10 min)

2. 산에 의한 톱밥가루의 분해

황산 처리의 결과로서 셀룰로오스 분말 가수분해 결과는 Table 1과 같다.

즉 기질을 산으로 처리하는데 있어서 산의 농도가 15%일때 시간이 증가하면서 가수분해되고 셀룰로오스의 양은 다소의 감소를 나타내었으며 산의 농도가 25%일때는 시간이 증가함에 따라 분해도가 증가되었다.

또한 산의 농도가 증가하면서 가수분해도가 감소하는 현상을 보이고 있다.

Table 1. Acid hydrolysis of sawdust (cellulose hydrolyzed %)

Acid Conc. (%)	Time (hrs)		
	1	2	3
15	14.82	14.38	13.71
20	12.20	12.40	10.32
25	9.60	11.75	12.03

3. 산과 효소에 의한 톱밥가루의 분해

산에 의해 분해를 받은 기질은 1시간내지 3시간의 효소처리에 의해 재 가수분해 되었으며 이때의 결과는 Table 2와 같다.

Table 2. Acid-enzymatic hydrolysis of Sawdust (cellulose hydrolyzed %)

Acid conc. (%)	Time (hrs)		
	1	2	3
15	13.86	18.40	15.90
20	12.51	12.18	20.20
25	15.70	13.01	13.21

이는 Table 1에서의 가수분해도와 비교 해 볼때 산 처리후 다시 효소반응시에는 다소 높은 분해도 증가를 나타내었으며 특히 25%의 산 처리구에서는 더 높은 분해율을 보였다.

4. 알카리 처리에 의한 톱밥가루의 분해

알카리 처리시에는 산처리에 비해 분해도가 비교적 낮았다. 그러나 같은 농도에서는 시간이 오래될 수록 다소 가수분해가 높아가는 경향이 보였다.

또한 알카리 농도 1.5%보다는 오히려 1%에서 보다 좋은 분해도를 나타내고 있다.

Table 3. Alkaline hydrolysis of sawdust (cellulose hydrolyzed %)

Alkaline conc. (%)	Time (hrs)		
	1	2	3
1.0	6.48	8.58	9.80
1.5	5.01	4.48	7.51

5. 알카리 효소처리에 의한 톱밥가루의 분해.

Table 4는 알카리 처리후에 다시 효소처리를 한 결과이다.

Table 4. Alkaline-enzymatic hydrolysis of Sawdust (cellulose hydrolyzed %)

Alkaline Conc. (%)	Time (hrs)		
	1	2	3
1.0	6.41	8.58	9.80
1.5	5.01	4.48	7.51

알카리 효소처리는 산 효소처리에 비해 약50%의 낮은 가수분해도를 나타내고 있다.

6. 가수분해 당의 정성 및 정량분석

가수분해된 용액중의 당을 paper chromatography<sup>11)</sup>으로 분리 정량하기 위하여, 각 spot를 8ml의 추출액 (36% HCl 29ml+95% ethanol 420ml)으로 용출하여 흡광도를 측정후 준비된 표준곡선과 비교해본 결과 25% 산효소처리와 1.5%알카리처리에 있어서 분해당은 glucose와 xylose만이 검출되었으며, 이들의 함량을 glucose와 비교할때 xylose의 분해도가 다소 높았다.

Table 5. Yield of sugars from 25% acid-enzymatic hydrolysis of sawdust

Substrate	Time (hr)	Dextrose (g/100g)	Xylose (g/100g)
		1	3.10
Sawdust	2	3.46	4.49
	3	4.09	6.61

Table 6. Yield of sugars from 1.5% alkaline-enzymatic hydrolysis of sawdust

Substrate	Time (hr)	Dextrose (g/100g)	Xylose (g/100g)
		1	3.08
Sawdust	2	3.64	4.80
	3	3.01	5.31

이는 이태리포플라와같은 활엽수에 있어서는 cellulose와 pentosan중 pentosan의 결합에너지가 약함을, 또는 분해받기 쉬운 구조를 가지고 있음을 추측할 수 있겠다.

Table 5와 Table 6의 결과로부터 산효소 알카리 효소 처리에 의한 당액을 생산할때에 기질 100g 으로부터 약 7~11g의 당을 얻을 수 있음을 알 수 있었다.

한편 Moshe katz<sup>12)</sup>은 70시간동안 Solka floc을 sweco mill을 하고 다시 30분간 220°C에서 wig-L-mill에 의해 기질을 처리한후 Tricoderma, spp. 이 분비하는 셀룰라아제에 의한 처리로 0.3g/ml 까지의 당액을 보고한 바있으며 Stutzenberger<sup>13)</sup>는 혼합된 활엽수 200mesh의 톱밥으로부터 Th. curvata

cellulase에 의해 기질 5%의 분해도를 보고한 바 있으나 아직도 cellulose는 전분만큼 40~50%의 분해율을 갖기 위해서는 새롭고 보다 혁신적인 연구가 계속되어야 하리라고 사료된다.

**요 약**

성장이 빠르며 입산가공학적으로 많이 이용되지 않고 있는 이태리 포플라를 이용하여 6탄당과 5탄당으로 가수분해를 시켰으며 다음과 같은 결과를 얻었다.

기질을 산으로 가수분해 시킨결과 황산 농도15%에서 1시간 작용시에는 14.82%, 산과 효소 가수분해시에는 산 농도 20%에서 3시간 처리시 20.20%가 분해되었다.

NaOH의 알카리로 처리시에는 1%의 농도 3시간이 지나 9.8%의 분해도를 보였고, 알카리 효소 처리시에는 10.48%까지 분해되었다.

또한 이와같은 실험에서 톱밥 가수분해에 대한 최적조건은 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 25%의 농도에서 3시간 처리후 또한 3시간동안 효소처리를 받았을때 기질 100g으로부터 10.70g의 당이 생성되었음을 확인하였다.

**문 헌**

1. Kressman, F. W. and Dept, U. S. : *Agr. Bull. Biophys.*, **48**, 983(1922)

2. Saeman, J. F. : *Methods in Carbohydrate Chemistry*, (vol. 3., Academi Press, New York) (1963)

3. Reese, E. T. and Smakula, E. : *Arch. Biochem. Biophys.*, **85**, 171(1959)

4. Sinclair, P. M. : *Chem. Eng.* **72**, 90(1965)

5. Lee, B. H. and Blackburn, T. H. : *Appl. Microbiol.* **30**, 276(1975)

6. Ghose, T. K. and Kostick, J. A. : *B. B.* **12** 921(1970)

7. Mandels, M. and Hontz, L. : *B. B.* **16**, 1471 (1974)

8. Howell, J. A. and Mangat, M. : *B. B.* **20**, 847(1978)

9. Tech. Associat. of Pulp and Paper Industry : *TAPPI Standard Method*, New York (1961)

10. Crampton, E. W. and Maynard, L. A. : *J. Nutr.* **15**, 383(1938)

11. T. L. C. (Egon Stahl, Toppan Co.) 807 (1969)

12. Katz, M. and Reese, E. T. : *Appl. Microbio.* **419**(1968)

13. Stutzenberger F. J. : *B. B.* **21**, 909(1979)