

식품 소재화를 위한 천연섬유소자원의 효소당화 기술

이 성 갑 / 국립안성산업대학교 교수

1. 머 리 말

지구상 인류가 필요한 식량자원은 녹색식물의 광합성기관인 엽록체내에서 땅속의 수분과 공기중의 탄산가스를 원료로 하고 태양복사에너지를 이용하여 탄수화물자원을 생합성하여 매년 우리가 소요로 하는 식량의 200배 이상인 50억톤을 생산하는데 이중 우리가 식량으로 이용하는 것은 농경지에서 생산하는 25% 정도이고 나머지 생질(生質)들은 자연의 초원과 삼림에서 생산되는 미이용(未利用) 식량자원이다. 해마다 반복생산되는 3/4 정도의 미이용자원인 섬유성 생질들은 식량 생질의 60%를 차지하는 것으로 섬유소, 헤미 셀룰로스, 리그닌, 만난, 펜토산 들로 현재 이용되지 않는 탄수화물 자원들이다. 이들은 장기 저장성을 가진 막대한 탄수화물성 생질들로서 가수분해등으로 포도당, 키시로스 같은 것으로 전환시키면 기존의 식량소재, 공업용원료로 알콜 같은 에너지원이 될 수 있다.

자연계에서 섬유소의 분포는 광범위하고 존재량도 많다. 목재나 초본식물체 즉 짚, 면인피, 털 등의 각종형태로 생산되는 섬유소는 우리의 생활에 절대필요한 물질로써 그 절반은 아직 인간이 이용하지 않거나 효과적으로 이용 못하고 그대로 부패변질 시켜버리는 실정이다.

섬유소는 B-1, 4 결합으로 된 GLUCOSE의 PLOYMER로써 모든 식물의 주구성 물질로써 건조한 식물체의 1/3~1/2을 차지하고 자연계의 전 유기물중에서 가장 존재량이 많은 화합물이다. 그리고 전 지구상에서 1년간에 광합성에 의해 생산되는 섬유소량은 약 1,000억톤으로 추산되고 매년 광합성되고 있어 사실상 지구상에서 가장 풍부한 무한정한 자원이다.

그러나, 지금까지 인간들은 목재를 그대로 건축재로써 사용해 왔고, 섬유소는 종이나 섬유로써 이용하고, 농산폐기물은 일부를 퇴비로써 사용하거나 미이용되고 혹은 쓸모없는 것은 모두 소각시키거나 부후(腐朽)처리 하게 된다.

이것은 태양에너지를 이용한 광합성 산물인 섬유소를 지극히 효율이 불량하게 이용하는 법이다.

인구폭발에 수반된 세계적인 식량위기, 에너지위기에 직면되고 있는 현재, 우리들은 먼저 태양에너지로 합성된 이 지구상에 가장 풍부하게 존재하는 GLUCOSE-POLYMER의 식량자원화에 관한 연구개발을 적극적으로 추진시킬 필요가 있다.

인간이나 대부분의 동물들은(반추동물을 제외한) 섬유소를 소화·이용할수 없다. 따라서 식량으로서 셀룰로스를 이용하려면 처음부터 포도당까지 분해시키지 않으면 않된다.

이 섬유소자원을 전분의 효소당화와 같이 공업적 규모로써 GLUCOSE로 전환하는 기술 개발이 성공하게 되면 인류에게 새로이 중요한 자원을 제공할수 있게 되고 더욱이 폐기물 재활용 자원화의 하나의 해결방안이 될 것이다. 섬유소에서 얻은 포도당은 그림 1에서와 같이 직접인간의 식량으로서, 혹은 동물의 사료로서 이용함은 물론 미생물 단백질의 원료, 발효원료(에너지원)로서 등, 지극히 광범위한 용도로 사용할수 있다.

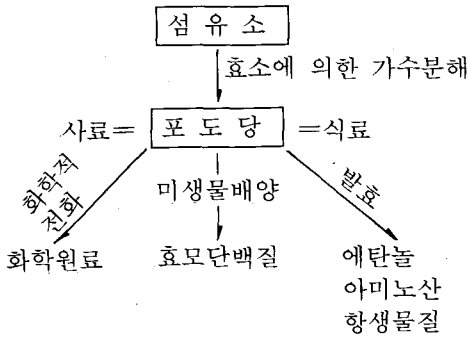


그림1 Cellulose 이용경로

2. CELLULOSE 자원의 특성

섬유소의 기본구조는 기본섬유에서 생성된 미세섬유의 집합체로서 구성되어 있다. 기본섬유는 결정영역과 비결정영역으로된 CELLULOSE분자를 15-40분 함유되었고 그 단면의 최소의 폭은 35Å정도이다. 대표적인 섬유소의 분자량은 표1과 같이 평균 300,000~500,000정도이다.

표 1. Cellulose의 성질

	분자량	중합도
천연섬유소	600,000~1,500,000	3,500~10,000
화학섬유	80,000~500,000	500~3,000
목재 pulp	80,000~340,000	500~2,100
rayon	57,000~73,000	350~450

이의 화학구조식은 그림2와 같이 CELLO

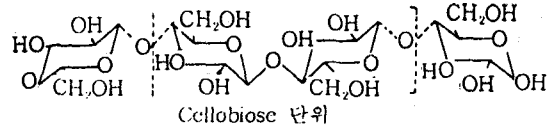


그림 2. β -1.4 glucose polymer의 구조

BIOSE 단위로된 직쇄상 PLOYMER이다. CELLULOSE분자의 결정영역에 있어서는 이의 직쇄상 POLYMER가 같은 방향으로 배열되었다. 소위 평행구조를 갖는다. 더욱이 섬유소분자에 있어서는 인접한 POLYMER는 1/4분자로된 격자공간이 공극없이 꽉짜여진 배열로 되어있고 수소결합으로 형성되어 안정화 되어 있다. 또한 분자내 수소결합을 하고 있어 적외선 분석으로서는 유리된 -OH기는 인지되지 않는다. 즉 CELLULOSE 결정구조 내에는 포도당 분자의 -OH기는 유리형으로 존재하지 않고 전부, 분자내·분자의 수소 결합으로 되어 있다.

그리하여 CELLULOSE분자가 전분분자와 다른 점은 강하고 견고하게 된 결정구조로 된 것이다. 이와같이 결정격자로된 것은 효소분자는 물론 물분자마저도 섬유소분자내로 침입하기가 어렵다. 더구나, 이 섬유소분자에 LIGNIN이나 HEMICELLULOSE가 휘감겨서 입체적으로 되어 효소분자가 섬유소분자에 접촉하는 것을 방해하게 된다.

3. CELLULOSE의 특징과 효소 생산균의 개량

천연 CELLULOSE의 CELLULASE 효소에 의한 분해반응은 일반적으로 지극히 늦고, 분해율도 낮다. 천연섬유소가 효소분해되는 것이 늦은 것은 먼저 설명한 바와 같이 기질이 LIGNIN, HEMICELLULOSE와 불용성의 강고한 구조를 형성하고 있고 순차적으로 작용이 다른 여러종류의 효소가 분해반응에 관여하기 때문이다. 지금까지 많은 종류의 CELLULASE 생산균주가 분리되었으며 대표적인 균주들을 보면 표 2와 같다.

표 2. CELLULOSE 분해 효소생성 미생물 균

Bacteria

- Cellvibrio fulvus* - 호기성·중온성
- Cellvibrio gilvus* - 호기성·중온성
- Cellvibrio vulgaris* - 호기성·중온성
- Cellulomonas* - 호기성·중온성
- Pseudomonas fluorescens* - 호기성·중온성
- Ruminococcus* - 혐기성·Rumen
- Clostridium thermocellulaseum* - 혐기성·고온성
- Actinomycetes* - 호기성
- Streptomyces QM 8814* - 중온성
- Thermoactinomyce* - 고온성
- Thermomonospora curvata* - 고온성
- Thermomonospora fusca* - 고온성
- Fungi** - 호기성
- Aspergillus niger* - 중온성
- Trametes sanguinea* - 중온성
- Poria* - 중온성
- Myrothecium Verrucaria QM 460* - 중온성
- Pestalotiopsis westerdijkii QM 381* - 중온성
- Penicillium iriensis QM 9624* - 중온성
- Penicillium funiculosum* - 중온성
- Penicillium variabile* - 중온성
- Polyporus versicolor* - 중온성
- Polyporus tulipiferae* - 중온성
- Fusarium solani* - 중온성
- Trichoderma viride* - 중온성
- Trichoderma lignorum* - 중온성
- Trichoderma Konigii* - 중온성
- Sporotrichum pulverulentum QM 9145* - 고온성
- Sporotrichum pruinosum QM826* - 고온성
(*Chrysosporium pruinosum*)
- Sporotrichum dimorphosporum QM 806* - 고온성
- Sporotrichum thermophilum QM 9382* - 고온성
- Chaetomium thermophilum QM 9381* - 고온성
- Thermoascus aurantiacus QM 9383* - 고온성

천연섬유소가 CELLOBIOSE와 GLUCOSE까지 분해시키는 기작에 있어 아직 미해결의 부분이 있으나 현재까지의 방법은 그림3과 같이 요약될 수 있다.

- 가. ENDO-β-1.4 GLUCANASE (EC 3.2.1.4)
- 나. EXO-β-1.4 GLUCANASE (EC 3.2.1.19)

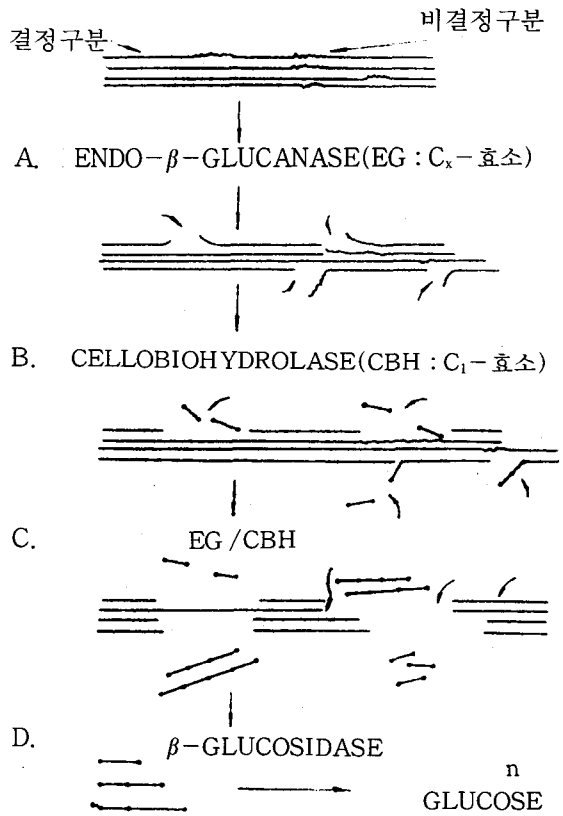


그림 3. CELLULASE의 작용양식

다. β-GLUCOSIDASE (EC 3.2.1.21)

등의 관여하는 3단반응을 거쳐서 진행되는 것으로 고찰된다.

ENDO-β-GLUCANASE는 C_x-효소, β-1.4 GLUCONOHYDROLASE, CMC-ASE 등으로 부른다.

이 효소는 CELLULOSE POLYMER의 내부결합에 RANDOM으로 작용하여 POLYMER를 절단시켜 CELLODEXTRIN, CELLOBIOSE 또는 GLUCOSE를 생성한다. 그외에도 또 CMC나 CELLULOSE의 가용성유도체, CELLODEXTRIN등을 분해할 수 있으나 CELLOBIOS의 분해능력은 거의 인정되지 않고 있다.

이 효소는 단독으로는 결정성 CELLU-

LOSE의 분해능력을 갖지 않으나 다음에 설명하는 EXO형 GLUCANASE와 공존하면 상승작용에 의해 강한 결정 붕괴능을 나타낸다. 역시 이 효소는 섬유소나 SHOLOSE(소호로스)등이 존재할때 처음 생성되는 유도효소이다. 불용성 섬유소 및 가용성 CELLULOSE를 분해하는 모든 미생물중에 존재하는 것으로 추정하고 있다.

EXO- β -1.4 GLUCANASE는 C₁-효소, CELLOBIOHYDRASE, AVICELASE라고도 부른다. 이 효소는 CELLULOSE POLYMER의 비환원 말단부터 순차적으로 CELLOBIOSE UNIT를 분리하는 작용을 갖는다. ENDO형 GLUCANASE와 공존하에서는 상승적으로 작용하여 CELLULOSE의 결정 붕괴능을 나타낸다. 이 효소도 섬유소나 SHOLOSE(소호로스)등에 의하여 유도되는 유도효소이다. 또한 이의 작용은 효소생성반응물로 생성된 CELLOBIOSE에 의해 강하게 저해되고 CELLOBIOSE의 분해 생성물인 GLUCOSE에 의하여도 저해를 받는다. 불용성 섬유소를 분해하는 효소는 모든 미생물이 생성하는 것으로 생각된다.

β -GLUCOSIDASE는 CELLOBIASE라고도 부르며 CELLOBIOSE를 GLUCOSE

로 분해시키고 CELLOTETRAOSE나 CELLOTRIOSE등의 CELLOOLIGO당의 분해능력도 갖는다. 반응생성물인 포도당에 의해 활성이 저해된다. 불용성 및 가용성 섬유소를 분해하는 효소는 모든 미생물에 존재하고 세루로스 분해능이 결핍된것도 CELLULOBIOSE 분해능을 갖는 미생물에는 존재하는 것으로 알려지고 있다. TRICHODERMA REESEI는 이 효소를 많이 생성한다고 생각되며 METHYL- β -GLUCOSIDE에 의해 이 효소의 역가는 상승한다.

이상과 같이 효소반응에서 천연섬유소가 포도당까지 분해하는것은 알려졌으나 이 섬유소 분해의 주효소(KEY ENZYME)는 무엇보다도 결정 섬유소에 작용하는 C₁-효소이다. 그러나 지금까지 발견된 섬유소분해균은 표3과 같이 C_x-효소를 일반적으로 갖는 것으로서 C₁-효소를 갖는 균도 상당히 많다. 그리고 C₁-효소를 갖는 CELLULOSE는 섬유소의 분해도가 높다.

지금까지 발견된 균중에서 TRICHODERMA VIRIDE의 CELLULOSE가 가장 높은 C₁-활성을 갖어 천연 CELLULOSE 분해활성이 가장 강하다.

시 판 ASPERGILLUS NIGER 의 CELL-

표 3. 각종 균주에 의한 C₁-효소와 C_x-효소의 생산성

Cellulase	C ₁ units	C _x units	섬유소의 가수분해%	
			생성된당	중량감소
Buffer(0.05 M acetate)	0	0	0	1
<i>Trichoderma viride</i>	50.0	50.0	58	53
<i>Chrysosporium pruinatum</i>	30.0	70.0	11	19
<i>Penicillium pusillum</i>	27.0	110.0	22	23
<i>Fusarium moniliforme</i>	NT	3.5	39	39
<i>Aspergillus terreus</i>	5.0	36.0	28	24
<i>Basidiomycete</i>	5.0	75.0	15	23
<i>Stachybotrys atra</i>	1.0	8.0	5	6
<i>Streptomyces sp</i>	0.7	40.0	9	12
<i>Fusarium roseum</i>	0.7	10.0	9	10
<i>Pestalotiopsis westerdijkii</i>	0.7	60.0	4	8
<i>Myrothecium verrucaria</i>	0.4	28.0	2	2
<i>Chaetomium globosum</i>	0.2	0.5	NT	NT

ULASE는 주로 C_x -효소와 β -GLUCOSIDASE를 함유하나 C_1 -활성은 상당히 낮다. 한편 T. VIRIDE CELLULASE는 높아 C_1 -활성과 C_x 활성을 함유한다. 따라서 C_x -활성은 두 미생물이 유사하나 C_1 -활성에 차이가 있기 때문에 C_1 활성이 강한 T. VIRIDE CELLULASE쪽이 일반적으로 NIGER CELLULASE보다도 강력한 것으로 알려지고 있다.

지금까지, 결정성이 높은 천연섬유소의 분해에는 강력한 C_1 -효소 외에 C_x -효소, β -GLUCOSIDASE를 적당한 비율로써 함유한 효소계가 필요하다. 강력한 즉 활성이 높은 효소계를 얻을 수 있는 것은 여러가지 방법이 있다.

일반적으로 CELLULASE 생산균을 산출하는 효소계의 비활성은 낮으나 섬유소분해에 사용하는 경우에는 배양여액중에 분비하는 셀룰라제 복합체를 정제하던가, 그대로 사용하는 방법이 가장 높은 활성을 얻을 수 있다. 이와 같을지라도 단순히 비활성만을 높게 하려면 정제처리가 있으나 이종(異種) 단백질 성분에서 생긴 C_1 -효소, C_x -효소, β -GLUCOSIDASE의 손실 및 그 비율을 변화없이 다른 협잡단백질을 제거하기는 불가능하다. C_1 -효소의 비활성을 높게 하려면 C_x -효소 혹은 β -GLUCOSIDASE를 제거하지 않으면 섬유소가 포도당으로의 분해율이 떨어지게 된다.

이 점에서 다른 가수분해효소와 다르다. 더욱이 CELLULASE의 수율은 배양조건

을 검토하고 배양중 표면활성제를 첨가함으로써 어느정도까지 향상시킬 수 있다.

그리하여 최근 돌연변이에 의한 강력한 셀룰라제 생산균을 분리 동정하여 실용화에 접어들고 있다. 그림4는 아메리카에서 가장 강한 활성을 갖는 TRICODERMA REESEI의 유전적 개량계통도이고 표4는 이 개량균의 CELLULASE활성을 비교한 것이다.

야생균주인 T.REESEI QM 6A는 미국의 NATICK 연구소와 RUTGERS 대학에서 NITROGUANISINE, 자외선, 방사선등의 보통의 변이조작을 사용하여 개량 시키는

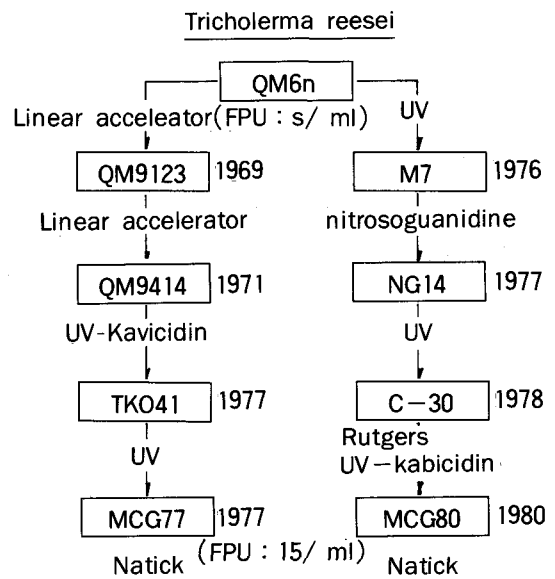


그림 4. TRICODERMA REESEI의 육종계통도

표 4. TRICODERMA REESEI변이 균주의 셀룰라제 생산성

Strain	CMC u/ml	Filter paper u/ml	β -glucosidase u/ml	Productivity EPU/Liter/h	Soluble protein mg/ml
BM 6a(Parent)	88	5	0.3	15	7
QM 9414(Natick)	109	10	0.6	30	14
MCG77(Natick)	104	11	0.9	33	16
C30(Rutgers)	150	14	0.3	42	19
NG14(Rutgers)	133	15	0.6	45	21

액체배양기술의 개발로써 약 3배의 높은 활성의 CELLULASE를 생산하기에 이르렀다.

여기서 CMC-ASE는 C_x -효소, AVICELASE는 C_1 -효소를, FP-ASE는 (C_1+C_x)활성을 보인다.

RUTGERS대학의 NG14는 FP-ASE활성에서 3배, CMC 분해활성에서 1.5배, β -GLUCOSIDASE활성은 2배로 개량시켰다. 또 NATICK 연구소의 MCG77 주는 FP-ASE 및 CMC-ASE는 NG 14주 보다도 열악하였으나 β -GLUCOSIDASE는 3배로 증강되었다.

한편 최근의 셀룰라제의 개량기술의 진보는 괄목하게 진행되어 미국의 TRICHODERMA의 CELLULASE보다 활성이 큰 균주를 선발하였다. 미국 NATICK연구소의 개량주인 TRICHODERMA 3G 78 및 PP 174 주의 셀룰라제, 일본 CEPB-5011주의 효소(메이지라제)에 이어서 덴마크의 NOVO사의 SP 122주의 CELLULASE활성을 비교한 것은 표5와 같다.

표5에서 MEICELASE의 FP-ASE 활성은 NATICK 3G 78주에 비하여 약간 낮으나 AVICELASE, CMC-ASE는 CELLO-

표 5. 여러 CELLULASE시판품의 활성비교

Activity(pH 4.8. 50°C)	Natick 3G 73	Natick PP 174	Novo SP 122	Meicelase CEPB-5011
Reducing sugar(mg/mg)	0	0	0.06	0
Protein(Lowly)(mg/mg)	0.84	0.05	0.50	0.71
Salicinase(30min)(u/mg)	0.05	-	0.03	1.08
Cellobiase(30min)(u/mg)	-	0.31	0.05	0.46
CMCase 7L2(30min)(u/mg)	31.5	-	-	33.9
CMCase 50T(30min)(u/mg)	-	-	6.5	12.3
FPase(60min)(u/mg)	0.56	0.53	0.26	0.33
Avicelase(60min)(u/mg)	0.73	-	-	0.79

BIOSE 활성에서는 미국제, 덴마크제보다 강력한 활성을 나타냈다. 이같은 우수한 CELLULASE 생산균을 사용하여 셀룰라제 생산 및 섬유소당화의 실용화 연구개발이 진행되고 있다.

더욱이 많은 연구자들에 의해 광범위한 섬유소 분해균을 SCREENING하여 상기의 T.VIRIDE CELLULASE보다도 활성이 높은 생산균을 분리하였다. 한편 유전공학적 방법에 의한 CELLULASE의 유전자해석, 개량연구도 행하고 있다. 앞으로도 보다 강력한 CELLULASE분해균의 SCREENING, 유전공학적 방법도입에 의한 개량 생산이 요구되고 있다.

4. 섬유소성 BIOMASS(생질)의 전처리와 효소분해성

섬유소를 포도당으로의 전환은 산가수분해법과 효소당화법에 의하여 실시하나 효소법이 여러가지면에서 유리한 이점이 많다.

역사적으로는 산당화법이 오래되었고 금세기 초 목재 CHIP을 원료로써 미국이나 독일에서 공업적 규모로 발전시켰다. 그러나 당시에는 고가이고 특별한 내산용기가 필요하고 섬유소결정구조는 산에 대해서 강한 저항성을 갖고 있기 때문에 가수분해할 때 높은 산 농도와 고온조건이 필요하다. 이 조건하에서






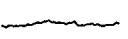
는 생성된 당이 2차분해를 일으키고 게다가 산 중화에 따라 다량의 염을 형성하기 때문에 포도당 수량은 원료로 사용한 섬유소의 50%정도이다. 따라서 경제적 채산성이 없기 때문에 현재로는 공산권제국에서 일부 제조하는 정도이다.

그후 섬유소 분해미생물의 연구가 활발히 진행되어 그의 응용연구가 상당히 발전되고 있다. 이 효소에 의한 섬유소를 분해하는 반응은 완전히 특이적이어서 헵잡물인 LIGNIN, PENTOSAN등에 의하여 영향받지 않는다. 또한 보통압력 및 온도조건하에서 이론상 100% 반응이 진행되고 생성당의 2차 분해도 생기지 않는 이점도 있다.

그러나 이 CELLULASE에 의한 섬유소 당화법도 문제점이 있다. 그것은 섬유소의 효소분해에는 CELLULASE복합체가 섬유소의 강고한 수소결합을 분해시키는 일이 필요불가결하고 지금까지의 개발된 CELLULASE로는 이의 결정구조를 완전히 분해하는 일은 불가능한 점이다.

이와같이 천연섬유소의 결정성과 효소분해성과의 관계를 각종 실험결과를 종합한것은 표6과 같다.

표 6. 천연섬유소의 결정성과 CELLULASE의 작용

Crystallinity	X-ray diffractogram	Cellulase complex	Estimated hydrolysis
		Cl+Cx (<i>T. viride</i>)	Low
		Cl+Cx (<i>T. viride</i>)	Low
		Cx (<i>A. niger</i>)	High

여기서는 천연섬유소의 존재형태를 편의상 3형으로 분류하여 최초의 것은 순수한 섬유소로 된것으로서 결정도가 높아 X선 도형에서도 $2\theta=22.5^\circ$ 로 특유의 PEAK를 나타낸다. 이와같이 결정도가 높은 섬유소의 분해는 결정구조를 파괴할 강력한 효소가 필요하여 예

상하는 분해율도 상당히 낮다.

제2 TYPE는 주성분으로 결정화 된 섬유소 외에 다른 리그닌, 헤미세룰로스 등 함량을 달리한 헵잡물(X)을 함유하여 결정도에 따라서 X선도형을 나타낸다. 최고의 결정성으로 구성된 결정섬유소는 분해효소가 필요하며 분해율도 떨어진다.

제3의 TYPE는 헵잡물을 함유하고 있는 섬유소로 결정성이 없고 X선 도형에 피크가 인정되지 않는다. 이같은 형의 세룰로스가 식물조직에 있는지는 불명하나 이 경우는 결정 섬유소 분해효소가 필요없어도 쉽게 분해된다.

이들의 관계에서도 알 수 있듯이 천연섬유소의 결정유무가 그 효소분해율에 크게 영향을 하게 된다. 실제로 섬유소 당화에 자원으로 쓰여져 있는 CELLULOSE는 주로 제2의 TYPE가 고려되나 여하한 방법으로 결정성을 파괴시켜 제3의 형이 효율이 좋아 효소 분해율을 얻을 수 있다.

그래서 이 분야의 연구개발 방향으로서 전술한 바와 같이 보다 강력한 CELLULASE를 분리, 개량시키는 동시에 세룰라제가 작용이 쉽게 강고한 섬유소 구조체를 파괴하는 전처리기술의 연구가 수행되어야 한다.

강고(強固)한 섬유소의 결정구조파괴방법으로서 (가) 생물학적 방법 (나) 화학적방법 그리고 (다) 물리적방법이 시도되고 있다.

생물학적 방법은 전술의 미생물이 생산하는 C_1 -효소에 의하여 결정구조를 파괴하는 방법으로서 현재 비교적 강력한 개량균주가 발견되어 실용화 수준의 활성이 있는 효소를 얻기에 이르렀다. 그러나 이 방법은 보조수단으로서 이 방법만으로는 결정구조를 파괴하는 것은 문제가 있어 물리적 혹은 화학적방법과의 조합이 필요하다.

화학적방법에 의한 섬유소결정구조파괴는 섬유소 용제를 사용하여 용해시켜 재침전시키는 방법으로서 용이하게 비정질(非晶質) TYPE로 전환할 수 있다. 이같은 화학적으로 비정질형으로 전환시킨 CELLULOSE는 C_1 -효소의 도움을 받을 필요가 있고 C_x 효소계로서 신속히 당화시킬 수 있다.

표 7. CELLULOSE의 결정도와 효소분해성과의 관계

섬유소	불용성물수율(%)	결정율(I)	당화율(%)
무 처리		8.8	26
+ 동결분쇄	100	4.9	36
+ 산처리(30분)	96	0.8	93
+ 산처리(60분)	93	0.7	94
cardoxen	98	1.0	93
+ DMSO-Form aldehyde	98	0.8	94

DMSO : dimethyl sulphoxide

용제로써, 산성, 알칼리성 혹은 유기용매계의 것을 사용하여 단시간에 90% 이상의 당화율을 얻을 수 있다.

그러나 이들 섬유소 용제는 실용적인 것은 아니다. 더욱이 이 방법은 앞으로 단일 유기용매계로서 회수가능한 섬유소 용제가 개발되면 실용화 가능한 방법이다.

다음 물리적방법은 고온고압, 분쇄, 방사선, 동결등에 의해 결정구조를 파괴하는 방법이다. 이 분야, 세계적 연구소인 미국의 NATICK에서는 상온에서 실시하는 POT MILL 법으로서 섬유소를 분쇄하여 T. REESEI MUTANT CELLULASE로 실용화 가능한 당화율을 보고하였다. 그리하여 이들 결과에 기초하여 PILOT PLANT LEVEL의 생산연구가 실시되었다.

그러나 이 방법으로는 섬유소에서 표도당으로의 과정중에서 POT MILL을 사용하는 에너지는 50~60%가 되고 역시 혼재하는 리그닌의 영향으로서 60% 정도의 당화율밖에 되지 않는 문제가 있다. 이에 대하여 동결분쇄법으로 미분화 처리한 섬유소는 X선도형 분석결과 결정성이 저하되어 C₁-효소의 도움이 필요없이 C_x-효소(A. NIGER CELLULASE등)로써 당화시킬 수 있다.

따라서 보통 왕겨, 벧짚, 폐목재 등의 농림산폐기물 및 신문지의 섬유소는 리그닌, 헤미셀룰로스 등의 협잡물과 조직구조체형성 때문에 강고한 결합양식을 갖고 있어 효소의 섬유소분해를 입체적으로 방해가 이루어지기 때문에 당화율에 한계가 생긴다. 특히 리그닌

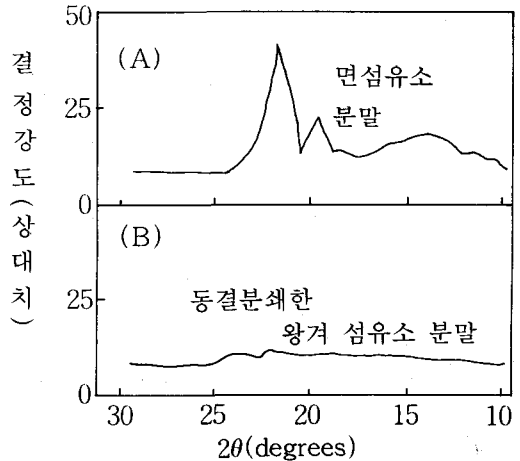
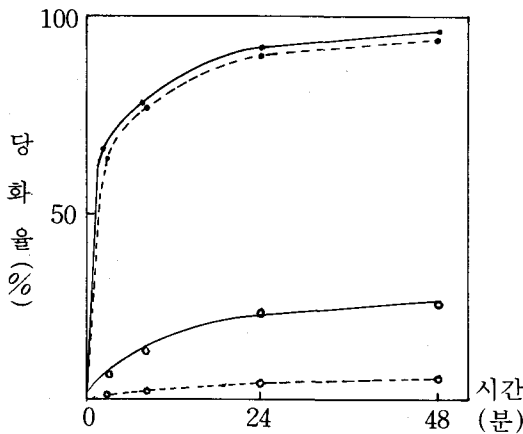


그림 5. 왕겨 섬유소의 X선 회절

은 리그노세룰로스의 형태로써 섬유소에 강하게 결합되어 있어 동결분쇄로써 리그닌과 세룰로스를 분리시키는 것은 불가능하다. 따라서 리그닌을 제거하는 조작이 다음의 효소분해성을 높이는데 필요하다.

섬유소 시료중에 함유된 리그닌제거법으로는 수산화나트륨(NaOH), 암모니아, AMMONIUM BISULFITE, SULFITE, 염화나트륨(NaCl), BUTYLACHOL 등이 사용되나 실험적으로는 묽은 알칼리액중에서 가열하면 간단하게 제거할 수 있다. 이와 같이 탈 리그닌 시킨 섬유소는 C_x-효소계가 신속히 80% 이상 분해할 수 있다. 한편 PULP를 제조공정에서 고도로 탈 리그닌 처리한 섬유소등을 효소당화하는 경우에는 동결분해



(T.VIRIDE) 및 Cx- 효소계(A.NIGER)에 의한 분해성
 ○ 결정형 섬유소 ● 비결정성 섬유소
 - T.VIRIDE 세루라제,A.NIGER 세루라제

그림 6. 비결정성 섬유소(산처리)의 C1-Cx효소계

후 탈리그닌 처리를 할 필요는 없고 그대로 효소반응에 제공하여도 된다.

동결분쇄의 제일 큰 효과는 부피의 감소이다. 왕겨, 볏짚 등 농산부산물은 일반적으로 부피가 커서 처리조작에 큰 용량의 용기를 필요로 하고 번잡하기도 하다. 따라서 부피있는 시료를 동결분쇄에 의해 단시간내에 연속적으로 미분화시켜 부피를 감소시킨 것을 효소당화전에 간단히 X선 분석에 의해 결정성의 유무를 CHECK하여 헛수고 없이 효소당화 처리를 하여야 한다.

이와 같이 동결분쇄는 물질을 저온하에서 기계적 충격에 상당히 취약한 성질을 이용하는 것으로서 섬유소의 구조파괴에 상당한 효과가 있어 단시간에 미분말화 시킬수 있다. 한 실례를 들면 시료를 선택하여 미국의 POT MILL법으로는 섬유소를 250MESH까지 하는데 15~16시간이 소요되나 본 방법으로는 10분내의 단시간에 분쇄화가 가능하다. 따라서 운전에너지도 적게 소요된다. 동결분쇄의 냉매는 실험적으로는 액체질소가 사용되고 있으나 실용적으로는 최근 관심이 되고

있는 LNG의 미이용 냉열을 활용하는 것이 보다 염가로 안전하게 공급·이용할 수 있다.

다음에 지금까지의 연구성과를 보면 어떤 미지의 섬유소 시료를 실험실적으로는 90% 이상 당화시킬 수 있는 방법이 구명되었다. 일반적으로 천연섬유소는 표6의 제2형이 대부분을 점하는 것으로 생각되며 이 제2형 섬유소를 설명하면 그림7과 같이 처음 섬유소 시료를 동결분쇄에 의하여 미분화 시킨다.

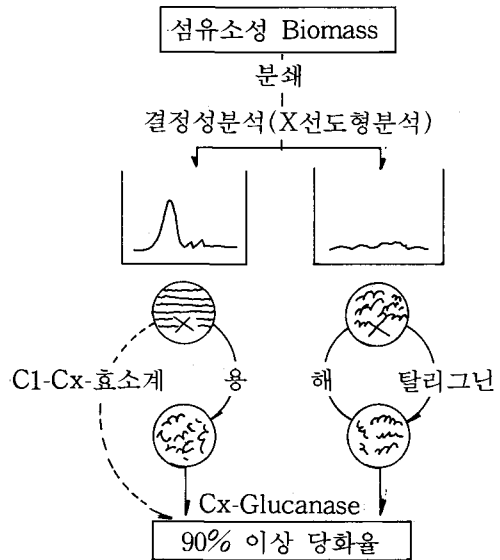


그림 7. 섬유소성 BIO MASS를 90% 이상 당화 시킬수 있는 FLOW DIAGRAMME

이의 X선 도형을 분석하여 결정성의 유무를 조사한다. 결정성 섬유소는 리그닌 제거후 C₁-C_x- 효소계(예로 T.VIRIDE CELLULASE)에 의해 90% 이상의 당화가 기대되고 있으나 현시점에서는 한계가 있다. 이것에 대하여 유효한 방법으로서 섬유소의 용해-재침전법에 의한 결정구조를 비결정질로 전환시킨다. 이것은 C_x-효소계(예 : A.NIGER CELLULASE)로 쉽게 90% 이상 당화가 이루어진다.

한편, 결정성이 없는 경우에도 물론 섬유소를 용해-재침전법에 의해 회수하면 신속하게 90% 이상 분해시키는데 좋은 방법은 효

소가 섬유소에 접촉이 쉽게 리그닌을 제거시켜야 한다. 리그닌을 제거시킨 섬유소시료는 신속히 C_x -효소계에 의해 당화시킬 수 있다.

이중에서 섬유소의 용해-재침전법은 상당히 유효한 방법으로서 현재로는 실용적인 섬유소용제가 발견되지 않았으나 실험적인 방법은 시도되었다. 그러나 또 하나의 방법은 동결분쇄 섬유소를 탈리그닌시켜, C_x -효소계로써 당화하는 방법은 조작도 간편하고 기술적으로도 실용화 가능한 방법이라고 생각된다.

5. CELLULOSE를 원료로한 포도당의 생산

현재 시도되고 있는 섬유소성 BIO MASS에서 구르코스를 생산하는 기본FLOW SHEET는 그림8과 같이 CELLULASE는

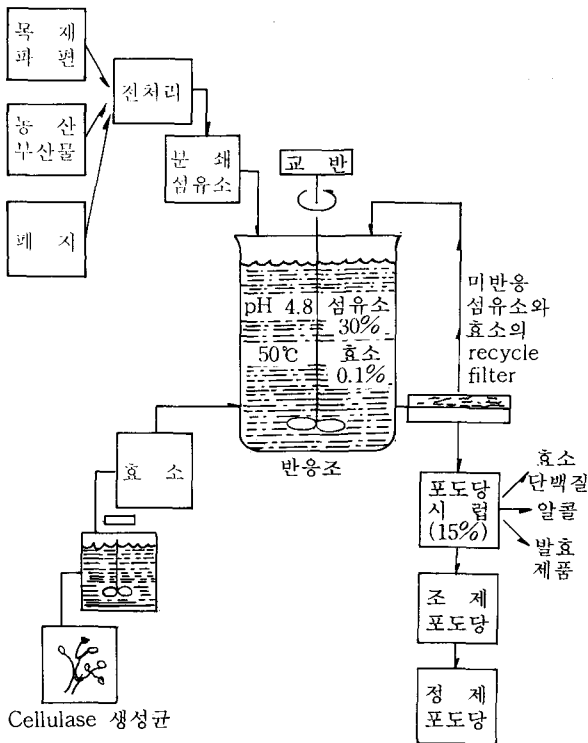


그림 8. 섬유소를 원료로한 포도당 생산공정

생산균의 배양액으로 부터 추출하고 기질은 농산부산물이나 고신문중의 섬유소를 분쇄 전처리하여 사용한다. 섬유소의 가수분해는 그림8에서와 같이 0.1% 효소액과 전처리 시킨 CELLULOSE(30%)를 당화 반응조 중에서 혼합처리를 잘 시켜야 한다.

당화반응은 상압, 50°C, pH 4.8에서 진행시키고 미반응의 섬유소와 효소는 반응조에 RECYCLE 시킨다. FILTER로 분리한 조포도당 SYRUP은 효모단백질, 알콜발효제품의 원료로써 이용하거나 다시 정제하여 감미료로 사용한다.

이 방법에 의한 포도당의 생산코스트는 이용가능한 섬유소량, 원료의 전처리 비용효소의 활성등 여러가지 요인이 관계되나 가장 중요한 것은 시설의 크기와 용량이다. 예비적으로 추정해 보면 연간 10만~20만톤의 경제적 단위의 생산시 포도당 1kg당 500~700원(60~90엔)으로 시산되었다.

고지(koji)는 약 30%의 리그닌과 기타 불순물을 함유하게 되어 이들 화합물은 효소와 반응시켜 반응종료후 포도당용액에서 간단히 제거할수 있다.

6. 섬유소성 BIO MASS 이용연구의 전망

섬유소의 효소당화를 중심으로 볼때 섬유소성 BIOMASS라는 관점에서 보아도 섬유소가 단일성분으로 된 BIOMASS는 상당히 적다.

결국, 대상으로하는 것은 CELLULOSE, HEMICELLULOSE, LIGNIN등이 혼재된 BIOMASS 들이다. 따라서 앞으로의 연구방향으로서는 (1) 섬유소성 BIO MASS를 분해시키는 강력한 효소생성균의 검색에 이어 세포융합, 유전자조작을 응용하여 유용균의 개량, 생산 (2) 섬유소성 생질(生質)의 효과적인 전처리기술개발에 이어 (3) 다성분계 생질의 연속적 복합적 변환이용 SYSTEM에 따른 BIOREACTER의 기술개발이 중요하다.

섬유소성 생질의 복합이용 SYSTEM은 그

림9와 같고 금후 섬유소만의 당화 이용뿐이 아니고 XYLOSE등의 C5-화합물, 포도당의 C6-화합물, 리그닌등의 환상 C6-화합물을

복합적으로 변환이용하는 BIO MASS SYSTEM의 개발이 필요하다.

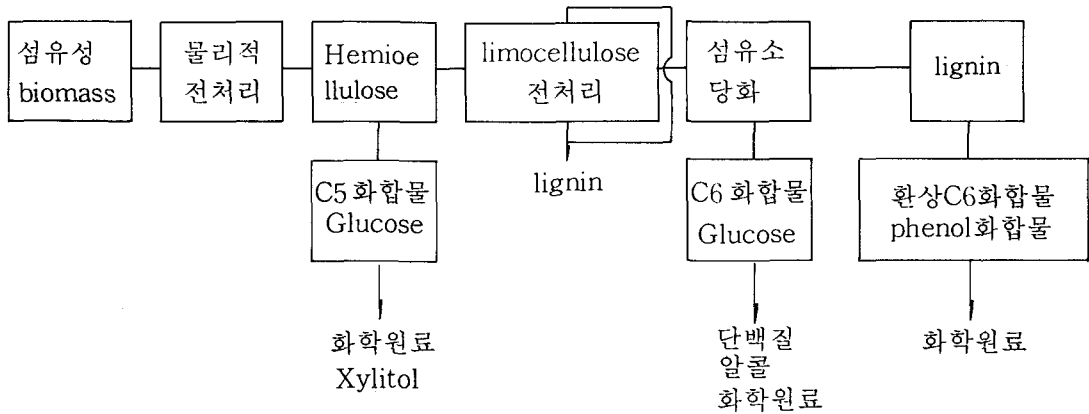


그림9. 섬유소성 BIO MASS의 복합적 이용 SYSTEM FLOW SHEET

7. 결 어

농업으로 부터 생산되는 식물체중 1/3은 가식목적으로 식량으로 이용하고 나머지 2/3는 섬유소계 미이용 자원으로 폐기되고 있다.

이들 미이용 섬유소계 자원은 β -1.4 GLUCAN으로 분해시켜 GLUCOSE로 변환시키면 식품소재로써 이용할수 있다. 이를 위하여는 (1) 섬유소를 분해시킬수 있는 강력한 효소의 개발과 (2) 효소에 분해되기 쉽게 섬유소자원의 전처리기술의 개발연구가 이루어져야 한다.

섬유소 분해효소의 개발에는 지금까지 TRI-CHODERMA VIRIDE CELLULASE을 중심으로 연구가 진행되고 있었고 CELLULASE의 분해에는 3종류의 효소계(ENDO- β -1.4 GLUCANASE, EXO- β -1.4 GLUCANASE, β -GLUCOSIDASE)가 관여하는 것이 판명되었고 또 T.VIRIDE균주를 개량시켜 CELLULASE 생산성을 몇배 향상시키는데 성공하였다. 더욱이 최근 이들 CELLULASE활성을 증가하는 섬유소 분해효소 생

산균을 분리하였다.

섬유소 자원의 전처리 기술로서는 물리적·화학적인 방법이 연구개발되었다. 실레로 MILL 분쇄, 방사선조사, 동결분쇄, 폭발분쇄 등의 방법에 의한 섬유소 구조체의 파괴, 또 DMSO-FORMALDEHYDE, 황산등의 섬유소용제에 의한 CELLULOSE의 비결정화 기술이 개발되어 실용화의 가능성이 제안되고 있다.

이들의 기술을 조합시켜 섬유소의 당화 SYSTEM이 완성되어야겠고 이의 가능성을 FLOW SYSTEM으로 제시하였으나 앞으로 더욱 연구를 계속하여 저렴하고 간단한 실용적인 풍부한 섬유소자원의 식품소재로써 이용화가 현실적으로 이루어져야 겠다.

참 고 문 헌

1. 이성갑 1992 농산식품가공이용학, 유림문화사
2. 이성갑 1989 안성농업전문대학 논문집 21, 안성농대
3. KAIYAMA'S 1981 BIOMASS와 신 에

너지 개발회의 자료 1-6-1

4. SASAKI, T. ETAL '79 BIOTECHNOL. BIOENG., 21, 1031
5. RYU, D AND MANDELS, M. 1980 ENZYME MICROB. THCHNOL. 2.91
6. SASAKI, T 1981 NIPPON SHOKUHIN KOGYO GAKKAISHI 29(9)
7. SASAKI 1984 SHIKRYO 24 JAPAN FOOD RESEARCH INSTITUTE
8. 김기철 1983 발효화학, 수학사
9. 정동효 1991 효소학, 선진문화사
10. PRESCOTT, S.C AND DUNN, C.G 1959 INDUSTRIAL MICROBIOLOGY, MCGRAW HILL.
11. MONTENECURT, B.S ETAL. 1979 IN PROCEEDINGS OF THE 3RD ANNUAL BIOMASS ENERGY SYSTEM CONFERENCE(SOLAR ENERGY RESEA

새질서 새생활로

명랑사회 이룩하자