

순수 설탕에 대한 고농도 당화공정의 동력학적 모사

오 경 근 · *정 용 섭 · †홍 석 인

고려대학교 화학공학과 · *전북대학교 식품공학과

Kinetic Modeling of the Enzymatic Hydrolysis of α -Cellulose at High Sugar Concentration

Kyeong-Keun Oh, Yong-Seob Jeong*, and Suk-In Hong†

Dept. of Chemical Engineering, Korea University, Seoul 136-701, Korea

*Dept. of Food Science and Technology, Chonbuk National University, Chonju, Chonbuk 560-756, Korea

ABSTRACT

For the effective ethanol fermentation, the high concentration of sugar as the substrate of microbial fermentation is required. The most important reason in the inefficient hydrolysis; the easy deactivation of enzyme by temperature or shear stress and the severe inhibition effects of its products. In our work, we comprehended the kinetic characteristics of cellulase and β -glucosidase in the progress of hydrolysis, and observed the potential inhibitory effects of the hydrolyzed products and the deactivation of enzymes. We also tried to present the kinetic model of enzymatic hydrolysis of α -cellulose, which is applicable to process at the high concentration of sugar. Cellulase and β -glucosidase exhibit diverse kinetic behaviors. At a level of only 5g/l of glucose, the β -glucosidase activity was reduced by more than 70%. This result means that β -glucosidase was the most severely inhibited by glucose. Also at 10g/l of cellobiose, the cellulase lost approximately 70% of its activity. β -glucosidase was more sensitive to deactivation than cellulase by about 1.6 times. The comprehensive kinetic model in the range of confidence was obtained and the agreement between the model prediction and the experimental data was reasonably good, testifying to the validity of the model equations used and the associated parameters.

서 론

설탕계 바이오매스로부터 연료용 에탄올로의 전환을 위한 기술개발에 대해 많은 관심이 기울여지고 있다. 설탕은 지구상에 가장 풍부하고 재생산이 가능한 자원이다. 설탕은 화학적 또는 생화학적 방법에 의해 포도당의 고분자 형태에서 유용 가능한

물질인 포도당이나 기타 올리고당으로 전환될 수 있다. 포도당을 생산하기 위한 가장 유용한 방법으로 효소에 의한 가수분해 방법을 들 수 있는데, 이 방법은 부산물 생산을 최소화하고 에너지 소모가 적으며, 그리고 온순한 조업 조건 등의 장점들을 가지고 있다. 그러나 이 방법에도 실제로 공정에 적용시키기에는 어려운 문제점들이 있다. 즉, 느린 가수분해 반응속도, 반응 초기단계의 급속한 반응속도 감소, 그리고 높은 효소 가격 등을 들 수 있다. 이러한 효

† Corresponding Author

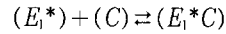
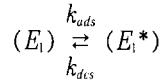
소에 의한 섬유소의 가수분해는 생화학적 복잡성 때문에 정확한 메카니즘을 평가할 수 없으며, 따라서 동력학적 모사는 전 공정의 관측적, 그리고 거시적 특징들을 근거로 해서 개발될 수밖에 없는 실정이다. 또한 섬유소 물질들의 화학적, 물리적 특성들의 다양성과, 효소가 많은 구성 성분으로 되어 있기 때문에 실제 공정에 적용하기에도 많은 어려운 점이 따른다. 섬유소의 가수분해에 의한 방법으로 효과적인 에탄올 생산이 이루어지기 위해서는 미생물 발효 기질인 셀로바이오스나 포도당의 높은 농도가 요구되므로 고농도 당화 반응이 요구되며, 고농도 당화 공정에서 가장 중요한 역할을 하는 것은 역시 셀룰라아제와 β -glucosidase 두 효소의 역할이다(1, 2, 13).

본 연구에서는 에탄올 생산 수율에 최대 관련이 되는 당 생산성을 최대화시키기 위한 일환으로 셀룰라아제와 β -glucosidase 두 효소의 역할을 이해하고, 고농도 당화공정에서 셀로바이오스나 포도당의 효소에 대한 억제효과를 관찰하고 공정조건 개선 및 공정설계 등에 이용할 수 있도록 고농도 당화공정의 동력학적 이론을 규명하고자 하였다.

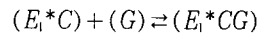
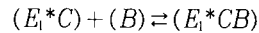
이 론

섬유소는 불용성 물질이므로 효소가 섬유소 가수분해 반응을 촉진시키기 위해서는 기질의 표면에 흡착되어야만 한다. 또한, 셀로바이오스가 포도당으로 분해되는 반응은 수용액 상태에서 진행되므로 섬유소의 포도당으로의 가수분해 반응은 균일, 비균일 반응의 밀접한 조합관계로 이루어진다. 이러한 섬유소 가수분해 반응의 속도론을 고찰하기 위해서는 그것의 복잡성을 감소시키기 위한 다음과 같은 일련의 가정들이 필요하다. 첫째, 섬유소 가수분해 반응은 두 단계로 일어난다. 즉, 불용성 섬유소는 endo- β -1,4-glucanase 와 β -1,4-glucan cellobiohydrolase 의 길항작용에 의해 셀로바이오스로 전환이 되고, 이어서 β -glucosidase에 의해 포도당으로 전환된다. 둘째, 섬유소의 비교적 분해반응이 어려운 결정형 부분과 분해가 용이한 무정형 부분은 서로 엉겨져 있으므로 이 두 부분을 따로 분리하여 구분할 수는 없다. 셋째, 섬유소 가수분해 반응은 효소의 흡착량과 흡착된 효소의 유효성에 의해 결정된다(3). 마지막으로 섬유소 가수분해 반응속도가 반응이 진행됨에 따라 감소하는 원인은 효소의 비활성화와 분해가 능한 섬유소 즉, 유효 섬유소의 감소, 그리고 생성물에 의한 효소의 억제영향을 들 수 있다.

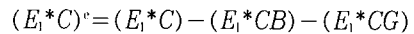
섬유소 가수분해 반응 메카니즘은 다음과 같이 표현할 수 있다.



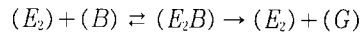
셀룰라아제의 비경쟁적 생성물 억제 영향 고려



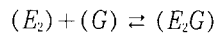
따라서 유효한 효소-기질 복합체는



β -glucosidase에 의한 셀로바이오스의 포도당으로의 전환



β -glucosidase의 포도당에 의한 경쟁적 억제 영향 고려



섬유소의 가수분해 속도 r_1 은 섬유소에 흡착한 셀룰라아제의 양에 의존한다.

$$r_1 \propto k(E_1^*) \tag{1}$$

흡착된 셀룰라아제의 양 (E_1^*)를 구하기 위하여 Langmuir 흡착등온식을 도입하면 흡착속도는 흡착되지 않은 부위와 효소농도에 비례한다

$$\left(\frac{dn_E}{dt}\right)_{ads} = k_{ads}(\alpha_i - \alpha)(E_1)$$

탈착속도는 흡착된 부위에 비례

$$\left(\frac{dn_E}{dt}\right)_{des} = k_{des}\alpha$$

셀룰라아제의 흡착과 탈착속도가 평형이라고 가정하면

$$k_{ads}(\alpha_i - \alpha)(E_1)k_{des}\alpha$$

$$\alpha = \frac{\alpha_i(E_1)}{(E_1) + K_c}$$

$$(E_1) = (E_1) + (E_1^*)$$

따라서 식 (1)은

$$r_1 = \frac{k_1 \alpha_i (E_1)_i}{\alpha_i [(E_1)_i + K_e] + (\alpha_i - \alpha)} \quad (2)$$

효소 농도가 높을 때에는, 즉 기질의 표면이 효소로 포화 되었을 때에는

$$\alpha \rightarrow \alpha_i$$

$$r_1 = \frac{k_1 \alpha_i (E_1)_i}{[K_e + (E_1)_i]} \quad (3)$$

또한 섬유소 가수분해 반응이 진행됨에 따라 반응 속도가 감소하는데 그 이유로는 생성물 억제영향 외에 효소의 비활성화와 유효 섬유소의 감소를 들 수 있다. 유효 섬유소의 감소를 고려하기 위하여 기질의 반응성 계수 ϕ 가 도입된다. ϕ 는 섬유소가 초기에 분해되지 않은 상태에서의 가수분해 속도와 가수분해 반응이 진행됨에 따라 잔류 섬유소에 대한 가수분해 속도의 비로 정의할 수 있다. ϕ 는 섬유소의 전환율과 관계가 있다(3).

$$\phi = 1 - X^n = 1 - \left[\frac{(S)_0 - (S)}{(S)_0} \right]^n$$

여기서 n 은 섬유소의 구조적 변형에 관련된 변수이며, 섬유소 종류, 전처리 방법에 따라 다르다. 따라서 ϕ , 그리고 셀로바이오스(B)와 포도당(G)의 비경쟁적 억제효과를 고려하고(4), 효소의 비활성화 항을 고려하면 섬유소의 셀로바이오스로의 전환 속도 r_1 은 다음과 같이 표현될 수 있다.

$$r_1 = \frac{k_1 \alpha \phi (E_1) \exp(-\lambda_1 t)}{[K_e + (E_1)_i] \left\{ 1 + \left[\frac{(B)}{K_{1B}} \right] + \left[\frac{(G)}{K_{1G}} \right] \right\}} \quad (4)$$

β -glucosidase는 수용액 상태에서 셀로바이오스를 포도당으로 전환시킨다. β -glucosidase는 기질에 의해 억제된다고 보고되었으며, 생산물인 포도당에 의해 경쟁적으로 억제된다고 보고되어 있다(12). 따라서 셀로바이오스의 당화 속도는 다음과 같이 표현할 수 있다.

$$r_2 = \frac{k_2 (E_2) (B) \exp(-\lambda_2 t)}{K_m \left[1 + \frac{(G)}{K_{2G}} \right] + (B) \left[1 + \frac{(B)}{K_{2B}} \right]} \quad (5)$$

재료 및 방법

실험재료

효소는 *Trichoderma reesei* 변이 균주에 의해 생

산된 상업용 효소인 Celluclast 1.5L(Novo Co., Denmark)와 β -glucosidase를 강화한 Novozym 188(Novo Co., Denmark)을 사용하였다. 효소 역가는 단위 가용성 단백질 함량당 각각 33.0 FPU/mg, 62.2 CBU/mg 이었으며, Celluclast 1.5L은 19 FPU/ml, Novozym 188은 20 CBU/ml 가되도록 citrate buffer(pH 4.8)로 희석하여 사용하였다.

효소에 의한 당화반응의 기질로 이용된 섬유소는 순수한 섬유소인 α -cellulose(Sigma Co. Germany)를 사용하였다. 섬유소는 citrate buffer와 혼합하여 pH 4.8로 조절하여 섬유소 슬러리를 만든 다음 최대의 수화를 위해 가수분해 반응에 앞서 12시간동안 진탕배양기에서 교반시켰다.

분석

섬유소 가수분해 효소의 역가는 DNS 방법(6)에 의해 환원당 농도를 분석하여 결정하였으며, β -glucosidase의 역가는 15.0mM 셀로바이오스를 기질로 하여 효소 1ml를 첨가하여 50°C에서 30분간 반응시킨 다음 생성된 포도당 농도를 측정하여 그 역가를 결정하였다(7). 포도당은 포도당 측정용 시약(영동 제약(주))을 이용해 GOD-POD 효소법으로 농도를 결정하였으며, 셀로바이오스는 DNS 방법에 의해 얻어진 환원당 농도에서 포도당의 농도를 뺀 값을 그 농도로 결정하였다(8).

섬유소 가수분해

효소를 이용하여 섬유소를 가수분해시키는 당화반응은 250ml 플라스크에 섬유소와 citrate buffer(pH 4.8)를 실험조건에 따라 100ml의 슬러리로 만들어 진탕 배양기(B. Braun Co., Germany)에서 반응시켰다. 이때 진탕 배양기의 회전속도는 200 rpm 이었으며 반응온도, 기질농도, 효소 역가는 당화공정 조건 최적화 실험(9)의 결과에 따라 각각 51°C, 8%, 그리고 각각의 역가가 34.3 FPU/g cellulose, 40 CBU/100ml reactant인 셀룰라아제와 β -glucosidase를 첨가하여 가수분해 반응을 수행하였다.

매개변수 결정

식 (4), (5)는 매개변수들의 값에 근거하여 효소의 동력학적 행동을 묘사한다. 각각의 실험을 통하여 수집된 동력학적 자료들을 비선형 회귀분석하여 매개변수들을 결정하였다. 본 실험에서는 Marquardt-Levenberg 알고리즘을 이용한 best-fitting 방

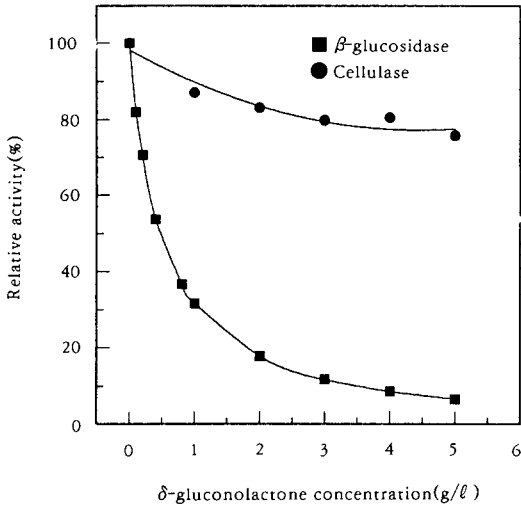


Fig. 1. Effect of δ -gluconolactone concentration on enzyme activities.

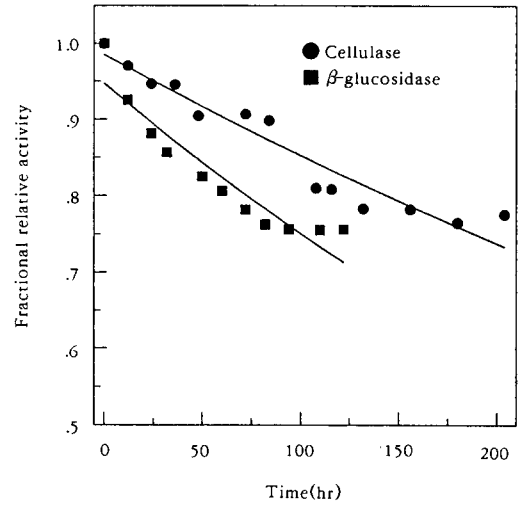


Fig. 2. Enzyme deactivation profile during incubation for cellulase and β -glucosidase.

법으로 매개변수를 결정하였다(10, 11).

초기반응속도 결정

셀룰라아제에 대한 억제효과를 관찰하기 위하여 셀로바이오스와 포도당을 일정 농도별로 첨가하여 섬유소의 가수분해를 수행하였다. 초기 20분 동안 5분 간격으로 시료를 채취하여 환원당 농도를 측정하고, 그 결과를 선형 회귀분석하여 얻은 기울기 값을 초기반응속도로 하였다. β -glucosidase에 대한 억제효과는 셀로바이오스를 기질로 한 반응액에 일정량의 포도당을 첨가하여 당화반응을 수행하였으며, 초기 4분간 1분 간격으로 생성된 포도당 농도를 측정하여 시간에 따라 선형 회귀분석하여 얻어진 기울기 값을 초기 반응속도로 하였다(12).

섬유소 가수분해반응 모사

섬유소가 가수분해되어 당이 생성되는 과정의 물질수지식에 매개변수 값들을 대입하여 얻은 미분방정식을 Runge-Kutta 방법을 이용, 수치해석하여 섬유소, 셀로바이오스 그리고 포도당의 시간에 따른 농도변화를 예측하여 실험값과 비교하였다.

결과 및 고찰

δ -Gluconolactone 농도가 효소의 역가에 미치는 영향 셀룰라아제와 β -glucosidase 효소들의 동역학적 행동을 규명하기 위해 섬유소의 분해에 대한 역가와

셀로바이오스 분해에 대한 역가를 구분할 필요가 있다. δ -글루코노락톤(δ -gluconolactone)은 셀로바이오스의 유사체로서 셀룰라아제 역가에는 영향을 미치지 않지만 β -glucosidase에는 억제반응을 나타내는 것으로 보고되어 있다(13). δ -글루코노락톤의 농도를 0~5g/l 까지 첨가해 주면서 셀룰라아제와 β -glucosidase의 역가를 비교해 본 결과 Fig. 1에서 보여주듯이 δ -글루코노락톤의 농도가 1g/l 첨가되었을 때 셀룰라아제는 87% 그 역가를 유지한 반면 β -glucosidase는 약 32% 밖에 역가를 유지하지 못하였다. 또한, δ -글루코노락톤을 3g/l 첨가해 주었을 때 셀룰라아제 역가는 80%를 유지한 반면 β -glucosidase 역가는 12% 밖에 유지하지 못하였다. δ -글루코노락톤이 5g/l 이상 일 때는 β -glucosidase는 거의 비활성화 되었다. 따라서 본 실험에서 섬유소 분해에 대한 역가와 셀로바이오스 분해에 대한 역가를 구분할 필요가 있을 경우에 대하여 δ -글루코노락톤을 3g/l 씩 첨가하여 당화반응을 수행하였다.

효소의 비활성화

섬유소 가수분해 공정에서 효소의 비활성화가 심각한 문제로 인식되고 있다. 효소 비활성화에 비교하여 실험은 섬유소가 없는 상태로 가수분해 실험과 동일한 조건에서 수행되었다. 효소의 비활성화 영향을 고려하기 위해 시간에 따른 효소의 역가 감소를 비교한 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 셀룰라아

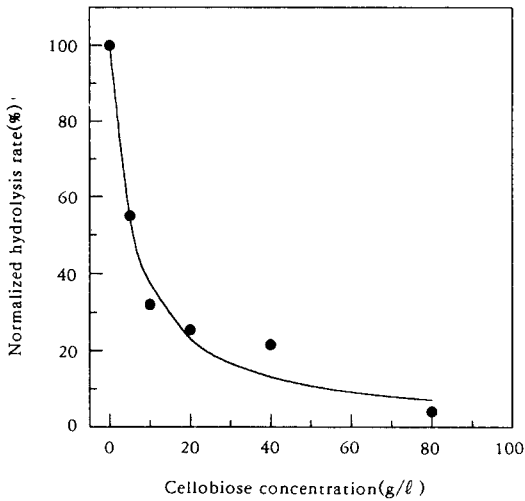


Fig. 3. Dependence of the cellulase activities on cellobiose concentration.

제와 β -glucosidase 둘 다 지수적 감소 현상을 보였다. 72시간이 경과되었을 때 셀룰라아제는 90% 상대 역가를 유지하였지만 β -glucosidase는 80% 밖에 역가를 유지하지 못하였다. 또한, 셀룰라아제의 역가가 20% 감소하기까지는 약 200여 시간이 걸렸지만 β -glucosidase 경우에는 60 시간 정도 걸린 것으로 나타나 β -glucosidase가 셀룰라아제 보다는 온도, 또는 전단력에 의한 비활성화 속도가 더 큰 것으로 나타났다. 효소의 비활성화 항을 섬유소 가수분해 반응 모델식에서 고려해 주기 위해 $\exp(-\lambda t)$ 항을 도입했다. 매개변수 값은 $\lambda^{\text{cellulase}} = 0.0232$, $\lambda^{\beta\text{-glucosidase}} = 0.0144$ 를 얻었다.

셀로바이오스 농도가 반응속도에 미치는 영향

셀로바이오스 농도를 0-80g/l 까지 변경시켜 가면서 환원당의 생성속도를 측정하였다. Fig. 3에서 보여지는 것 처럼 셀로바이오스 농도를 10g/l 첨가 시 셀룰라아제의 초기 반응속도는 70% 감소한 것으로 나타났으며, 셀로바이오스 농도가 20g/l, 60g/l 일 때 셀룰라아제의 초기 반응속도는 각각 23%, 9%를 나타내어 셀로바이오스의 셀룰라아제에 대한 억제 영향이 매우 심각한 것으로 나타났다. 앞의 (4)식에서 시간이 0일 때 즉 포도당농도가 0일 때 로 외삽하면

$$(r_1)_{t=0} = \frac{\text{constant}}{1 + \frac{B}{K_{1B}}} \quad \text{이므로}$$

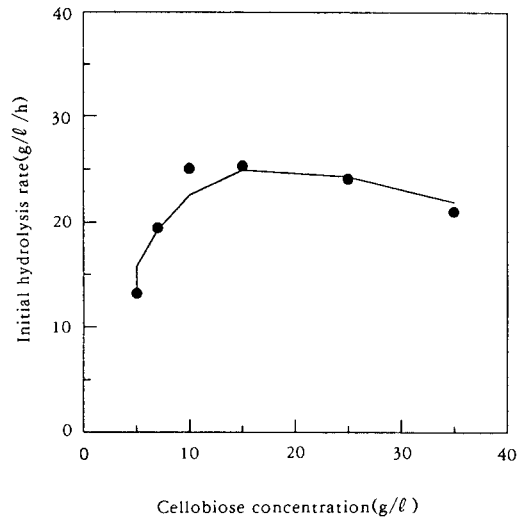


Fig. 4. Effect of cellobiose concentration on the initial hydrolysis rate of β glucosidase.

본 실험에서 매개변수 K_{1B} 는 6.0446(g/l)을 얻었다.

또한, 셀로바이오스는 β -glucosidase에 대해서는 기질로 작용한다. 섬유소 가수분해 반응 공정중 전 과정에서 셀로바이오스 농도는 10g/l 를 넘지 않을 것으로 생각되어 기질농도 5g/l (셀로바이오스)에 0-30g/l 까지 셀로바이오스를 첨가하여 당화반응을 진행시켰다. Fig. 4에서 보여주는 것처럼 총 셀로바이오스 농도가 15g/l 까지는 Michaelis-Menten식에 잘 따르는 것으로 나타났으며 15g/l 이후에는 미세하나마 기질 억제 효과가 작용하여 초기 반응속도가 조금씩 감소하는 것으로 나타났다. 그러나 실제로 당화 반응이 일어나는 동안에 셀로바이오스 농도가 10g/l 를 넘지 않으므로 본 실험에서는 기질억제효과는 고려하지 않아도 될 것으로 사료된다. 따라서 (5)식에서 시간이 0일 때, 즉 포도당의 농도가 0일때로 외삽하면

$$(r_2)_{t=0} = \frac{\text{constant}}{K_m + B} \quad \text{이므로}$$

매개변수 $K_m = 9.2856$ (g/l)을 얻을 수 있었다.

셀룰라아제 및 β -glucosidase에 대한 포도당의 억제 영향

포도당의 농도를 0-80g/l 까지 변화시켜 가면서 셀룰라아제 및 β -glucosidase에 대한 포도당의 억제 영향을 관찰하였다. 포도당의 농도가 5g/l 일 때

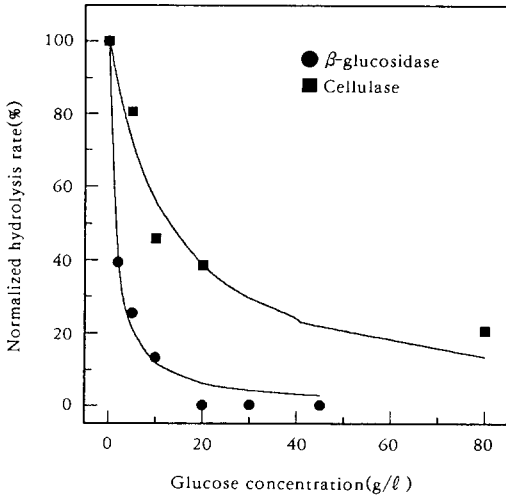


Fig. 5. Effects of glucose concentration on the activities cellulase and β glucosidase

cellulase역가는 72%를 유지한 반면 β -glucosidase는 21%의 초기 반응속도를 유지하였다. 포도당의 농도가 20g/l 일 때 셀룰라아제의 초기 반응속도는 60% 감소하였으며, β -glucosidase는 거의 비활성화된 것으로 나타났다(Fig. 5). 따라서 (4)식을 시간이 0일 때로 외삽하면

$$(r_1)_{t=0} = \frac{\text{constant}}{1 + \frac{G}{K_{1G}}} \text{ 이므로}$$

매개변수 $K_{1G} = 12.3837(\text{g/l})$ 을 얻었으며

(5) 식을 외삽하면

$$(r_2)_{t=0} = \frac{\text{constant}}{2.857 + \frac{G}{K_{2G}}} \text{ 이므로}$$

매개변수 $K_{2G} = 0.327(\text{g/l})$ 값을 얻었다.

따라서 포도당은 셀룰라아제와 β -glucosidase에 대해 커다란 억제 영향을 미치지만 그중 β -glucosidase에 대한 억제영향이 더욱 심각한 것으로 나타났다.

섬유소 가수분해반응 모사

앞에서 얻은 매개변수들의 값은 Table 1에 요약하여 비교해 보았다. 억제효과정도는 포도당의 β -glucosidase에 대한 억제효과가 가장 심각한 것으로 나타났으며, cellulase는 셀로바이오스에 의해 심각하게 억제 효과를 받는것으로 나타났다.

Table 1. Kinetic parameter of cellulase and β -glucosidase with regard to their interactions with products.

Parameter	Parameter value	Enzyme/Inhibitor	
k_1	0.153 (h^{-1})	cellulase	
k_2	52.436 ($\text{g/l}^{-1} \text{h}^{-1}$)	β -glucosidase	
K_{1B}	6.0446 (g/l^{-1})	cellulase/cellobiose	strong inhibition
K_{1G}	12.3837 (g/l^{-1})	cellulase/glucose	moderate inhibition
K_{2G}	0.3270 (g/l^{-1})	β -glucosidase/glucose	very strong inhibition
K_m	9.2856 (g/l^{-1})	β -glucosidase	substrate
λ_1	0.0232 (h^{-1})	cellulase	
λ_2	0.0144 (h^{-1})	β -glucosidase	
ϕ	1.0	cellulose	

또한, 가수분해 반응이 진행됨에따라 반응속도가 낮아지는 또다른 이유로 유효 섬유소의 감소를 고려해야 하는데, 이 실험에서 섬유소의 반응성계수의 영향은 크게 나타나지 않았다. 그것은 이같이 당농도가 높은 당화공정에서 반응속도 감소의 주된 원인이 생성물 억제 영향과 효소의 비활성화이기 때문인 것으로 사료된다.

실험을 통하여 결정된 매개변수 값을 모델식에 적용하여 속도 표현식 적용성을 입증하고자 하였다. 섬유소가 가수분해 반응되어 당이 생성되는 과정의 물질 수지식을 세워 보면 섬유소 농도(C), 셀로바이오스 농도(B), 그리고 포도당농도(G)에 대해 다음 식으로 정리할 수 있다(14).

$$\frac{dC}{dt} = -\frac{k_1 C e^{(-\lambda_1 t)}}{1 + \frac{B}{K_{1B}} + \frac{G}{K_{1G}}} \tag{6}$$

$$\frac{dB}{dt} = -1.056 \left(\frac{dB}{dt} \right) - \frac{k_2 B e^{(-\lambda_2 t)}}{K_m \left(1 + \frac{G}{K_{2G}} \right) + B} \tag{7}$$

$$\frac{dG}{dt} = -1.053 \left[1.056 \left(\frac{dC}{dt} \right) + \left(\frac{dB}{dt} \right) \right] \tag{8}$$

1.056, 1.053 계수는 섬유소 또는 셀로바이오스가 분해되면서 합쳐지는 물분자의 무게에서 기인된다. 속도매개변수 k_1 과 k_2 는 초기속도결정단계에서 $k_1 = 0.153(\text{h}^{-1})$, $k_2 = 52.436(\text{g/l}^{-1} \text{h}^{-1})$ 을 얻었다.

위의 모델식은 Runge-Kutta 4th method를 이용해 미분방정식을 수치해석하여 섬유소, 셀로바이오스, 그리고 포도당의 시간에 따른 농도변화를 Fig. 6에 나타내어 실험결과와 비교하여 보았다. 반응시

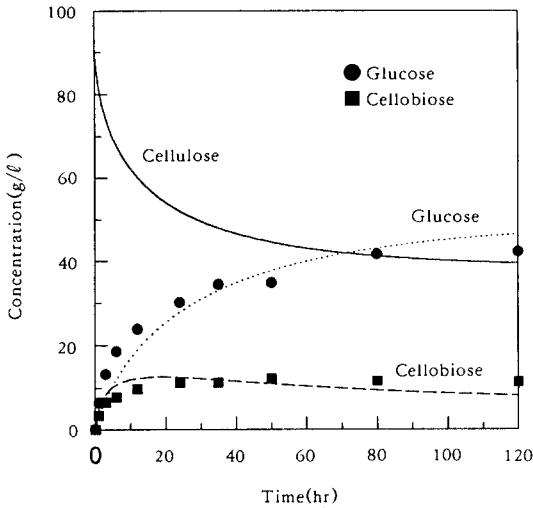


Fig. 6. Model simulations and experimental data of cellulose hydrolysis at optimum conditions.

간은 120시간까지 하였으며 80시간 후에는 거의 반응이 멈춘 것으로 나타났다. 실험 결과와 모사된 계산값을 비교해보면, 포도당에 대해서는 반응 초기에, 그리고 셀로바이오스에 대해서는 반응 후반기에 실험값에 비해 조금 과소평가 되었지만 전체적으로 신뢰할 수 있는 범위의 결과를 얻었다. 기질의 특성과 효소와 기질간의 상호작용에 대한 이해를 증진시키고, 모델 매개변수에 대한 보정단계를 거친다면 고농도 당화공정에 적용하여 공정설계, 공정최적화, 그리고 규모 확대등에 이용될 수 있을 것으로 사료된다.

요 약

섬유소는 효소에 의한 가수분해에 의하여 유용한 화합물이나 연료 등으로 전환될 수 있다. 그러나 효소가 온도나 전단응력에 의해 쉽게 비활성화 되고 생성물인 당에 의한 억제 효과가 심각하기 때문에 효과적인 당화공정이 이루어지지 못하는 실정이다.

본 실험에서는 섬유소 가수분해에서의 두 효소, 즉 셀룰라아제와 β-glucosidase의 동력학적 특징들을 이해하고, 생성물 억제영향 및 효소의 비활성화를 관찰하여, 섬유소의 고농도 당화 공정에 적용가능한 동력학적 이론을 규명하고자 하였다.

셀룰라아제 및 β-glucosidase는 다양한 동력학적 특징들을 보였으며, 반응기내에 5g/l의 포도당이 존재하여도 β-glucosidase의 역가가 70% 이상 감

소하는 것으로 나타나, 포도당에 의한 β-glucosidase의 억제 영향이 가장 심각한 것으로 나타났다. 또한 셀로바이오스의 농도가 10g/l 일때 역시 셀룰라아제의 역가가 약 70% 감소하였다. β-glucosidase의 경우 셀룰라아제와 비교하여 약 1.6배 정도 비활성화에 더 민감한 것으로 밝혀졌다. 당화 공정 모사 결과는 대체적으로 신뢰할 수 있는 범위의 결과를 얻었으며, 가수분해가 진행되는동안 실험결과와 모사에 의한 계산값은 잘 일치하였다.

감 사

본 연구는 에너지자원기술개발지원센터의 지원(1995)에 의하여 이루어졌으며, 이에 감사의 말씀을 드립니다.

사용기호

- k_1 : specific rate of cellulose hydrolysis (h^{-1})
- k_2 : specific rate of cellobiose hydrolysis (h^{-1})
- k'_1, k'_2 : lumped constants respectively (h^{-1}), ($g/l/h$)
- $(C), (B), (G)$: concentrations of cellulose, cellobiose, and glucose (g/l)
- (E_1^*) : concentration of adsorbed cellulase (g/l)
- $(E_1), (E_2)$: free cellulase and β-glucosidase concentration (g/l)
- $(E_1)_t$: total cellulase concentration (g/l)
- r_1 : Volumetric rate of cellulose utilization ($g/l/h$)
- r_2 : Volumetric rate of cellobiose utilization ($g/l/h$)
- k_{ads}, k_{des} : specific rates of cellulase adsorption on and desorption from the surface of cellulose
- K_s : k_{des}/k_{ads} (g/l)
- α_t : total surface area of the substrate (m^2/l)
- α : surface area of the substrate occupied by cellulase (m^2/l)
- α_s : surface area occupied per unit mass of cellulase (m^2/g)

- K_m : Michaelis constant of β -glucosidase for cellobiose (g/l)
- K_{1b}, K_{1c}, K_{1E} : inhibition constants of cellulase (g/l)
- K_{2b}, K_{2c}, K_{2L} : inhibition constants of β -glucosidase (g/l)
- ϕ : cellulose reactivity constant [dimensionless]
- λ : specific rate of enzyme deactivation(h^{-1})

참 고 문 헌

1. J. D. Wright(1988), *Chemical Eng. Prog.*, 62.
2. G. Caminal, J. L. Santin, and C. Sola(1985), *Biotechnol. Bioeng.*, **27**, 1282.
3. L. T. Fan and Y. H. Lee(1983), *Biotechnol. Bioeng.*, **25**, 2707.
4. M. T. Holtzapple, M. Cognata, Y. Shu, and C. Hendrickson(1990), *Biotechnol. Bioeng.*, **36**, 275.
5. J. Hong, M. R. Ladish, C. S. Gong, P. C. Wankat, and G. T. Tsao(1981), *Biotechnol. Bioeng.*, **23**, 2779.
6. J. M. Lee(1992), *Biochemical Engineering*, 1st ed., p. 94, Prentice Hall, New Jersey.
7. T. K. Ghose(1987), *Pure & Appl. Chem.*, **59** (2), 257.
8. S. Y. Huang and J. C. J. Chen(1988), *J. Ferment. Technol.*, **66**(5), 509.
9. 오경근, 김승욱, 정용섭, 홍석인(1996), *한국화학공학회지*, **34**(2). (계재예정)
10. V. Bernd and S. Walter(1993), *Biotechnol. Bioeng.*, **42**, 469.
11. D. W. Marquardt(1968), *J. Soc. Indust. Appl. Math.* **11**, 431.
12. M. T. Holtzapple, H. S. Caram, and A. E. Humphery(1984), *Biotechnol. Bioeng.*, **26**, 775.
13. G. P. Philippidis, D. D. Spindler, and C. E. Wyman(1992), *Appl. Biochem. Biotech.* **34/35**, 543.
14. G. P. Philippidis, T. K. Smith, and C. E. Wyman(1993), *Biotechnol. Bioeng.*, **41**, 846.