

고효율 효소를 분비하는 균주의 선발 및 신문고지의 효소탈묵 특성(제3보)

—고지탈묵용 Bacterial Cellulase와 Xylanase의 생산—

박성철[†] · 강진하 · 이양수
(2004년 12월 27일 접수: 2005년 1월 26일 채택)

Screening of Microorganisms Secreted High Efficient Enzymes and Properties of Enzymatic Deinking for Old Newsprint(III)

—Production of bacterial cellulase and xylanase for enzymatic
deinking of old newsprint—

Seong-Cheol Park[†], Jin-Ha Kang, and Yang-Soo Lee
(Received on December 27, 2004: Accepted on January 26, 2005)

ABSTRACT

This study was carried out to examine the optimal cultural condition in enzyme activities of CMCase, FPase and xylanase in selected strains which secret extracellular enzymes for using deinking agent to old newsprint. The results of this study were as follow: The production of enzyme by *Bacillus pumilus* I was maximal as grown on the medium, containing of rice bran+xylan 2.0%, peptone 0.8%, K₂HPO₄ 0.1% and CaCl₂ 0.06% at pH 8.0 and 28°C for 72 hours. Optimal cultural condition of *B. subtilis* I was avicel+xylan 3.5%, urea 0.4%, K₃PO₄ 0.1% and CaCl₂ 0.015% at pH 9.0 and 28°C for 36 hours. The maximal enzyme production was observed in the medium, containing of avicel+xylan 3.5%, urea 1.6% and K₂HPO₄ 0.125% with pH 9.0 when *B. pumilus* II was cultured at 28°C for 60 hours. The production of enzyme by *B. subtilis* II was maximal as grown on the medium, containing of xylan 2.0%, yeast extract 0.6%, K₂HPO₄ 0.1% and ZnSO₄

• 전북대학교 농업생명과학대학 산림과학부 (Division of Forest Science, College of Agriculture and Life Sciences, Chonbuk National University, Jeonju 561-756, Korea)

† 주저자(Corresponding author): E mail: jihu2002@orgio.net

0.04% at pH 8.0 and 34°C for 36 hours. The activities of FPase and xylanase in tested 4 strains were not much different with *Thermomonospora fusca*.

Keywords : enzymatic deinking agent, wastepaper, enzyme, cellulase, CMCCase, FPase, xylanase, *Bacillus pumilus*, *B. subtilis*, *Thermomonospora fusca*

1. 서론

Biotechnology는 지난 수십 년 간 여러 산업 분야에서 그 응용 가능성이 시험되어져 왔고, 제지산업은 기존의 화학약품에 의한 환경오염에 대한 문제로 환경 친화적 공정개선이 요구되어 왔으며, biotechnology가 이러한 문제 해결의 가능성을 제시함으로써 많은 연구가 행해져오고 있다.

우리나라는 지류 생산량은 세계 10위에 있는데 반해 펄프의 생산량은 28위에 머물고 있어 해마다 막대한 외화를 지불하면서 펄프와 고지를 수입하고 있다.¹⁾ 고지의 이용은 자원의 절약뿐만 아니라 천연펄프에 비해 가격이 저렴하고 고지탈묵에 대한 투자비도 목재의 펄프화 설비에 비해 적게 소요되는 등 고지의 중요성은 점점 더 증대되고 있다. 특히 미생물 효소를 이용한 효소탈묵은 세척법이나 부상법과 같은 재래식 탈묵방법에 비해 많은 장점을 가지고 있어 이들에 대한 최근의 연구로 *Trichoderma reesei* ATCC 28217 균주를 이용하여 탄소원으로 면실박과 신문고지를 활용하여 탈묵에 이용할 수 있는 cellulase와 xylanase를 생산하였고, Sreenath 등⁵⁾은 알칼리성 cellulase를 생산하는 탈묵용 미생물을 선발하고 탈묵하였으며, Lee 등⁴⁾은 *Coprinus cinereus* 2249에서 단리한 cellulase를 이용한 탈묵, Viesturs 등⁵⁾의 cellulase와 xylanase를 이용한 탈묵 결과를 보고 한 바 있다. 그러나 이러한 효소탈묵을 위한 선결 과제로 높은 역할을 가지고 있는 효소를 생산하는 것이 무엇보다도 중요하여 식품 및 세제 연구분야에서도 cellulase 및 xylanase 생산을 위한 많은 연구가 진행되고 있다. Cellulase는 *Cellulomonas* sp. YE-5,⁶⁾ *Pseudomonas* sp.⁷⁾ 등이 이용되고 있고, xylanase 생산을 위해서 *Bacillus stearothermophilus*,⁸⁾ *Bacillus* sp. GS⁹⁾ 등 수많은 세균들이 이

용되고 있다.

이에 따라, 본보에서의 연구는 전보¹⁰⁾에서 CMCCase, FPase, xylanase 활성이 우수한 선발된 4종의 박테리아를 사용하여 효소생산을 위한 최적 배양조건을 검토하기 위해 수행되었다.

2. 재료 및 방법

2.1 공시균주 및 배지

전보¹⁰⁾에서 cellulase와 xylanase 생산력이 우수한 선발 균주 *Bacillus pumilus* I, *B. subtilis* I, *B. pumilus* II, *B. subtilis* II를 공시균주로 사용하였고, CMC 10, xylan 10, yeast extract 5, peptone 5, K₂HPO₄ 1 g/ℓ를 기본 배지로 하였다.

2.2 적정 배양조건 구명

2.2.1 pH

배지의 pH를 4.0~10.0으로 조절하여 각각 30°C, 48시간의 조건으로 배양하고 CMCCase, FPase, xylanase 활성을 측정하여 적정 pH를 구명하였다.

2.2.2 온도

최대활성의 pH로 배지를 조절하고 온도를 26~38°C로 변화시킨 조건으로 배양한 후 CMCCase, FPase, xylanase 활성을 측정하여 적정 배양온도를 구명하였다.

2.2.3 탄소원

기본배지에 무첨가, rice bran, avicel, xylan, CMC, rice bran+avicel, rice bran+CMC, rice bran+xylan, avicel+xylan, CMC+xylan을 배지의 유일한 탄소원으로 1%를 첨가하여 배양한 후

CMCase, FPase, xylanase를 측정하여 최적의 탄소원을 선발하였다.

최적의 탄소원을 0.5~4.0% 첨가하여 배양한 후 CMCase, FPase, xylanase 활성을 측정하여 적정 첨가량을 구명하였다.

2.2.4 질소원

최적 탄소원의 적정량을 첨가한 기본배지에 질소원으로 무첨가, peptone, yeast extract, urea, ammonium acetate, ammonium sulfate, yeast extract+peptone를 각각 0.5%씩 첨가하여 배양한 후 CMCase, FPase, xylanase를 측정하여 최적의 질소원을 구명하였다.

최적의 질소원을 0.2~2.0% 첨가하여 배양한 후 CMCase, FPase, xylanase를 측정하여 최적의 질소원의 적정첨가량을 구명하였다.

2.2.5 인원

최적의 탄소원과 질소원을 첨가한 기본배지에 인원으로 무첨가, KH_2PO_4 , K_2HPO_4 , K_3PO_4 를 각각 0.1%씩 첨가하고 배양한 후 CMCase, FPase, xylanase 활성을 측정하여 최적 인원을 구명하였다.

최적의 인원을 0.025~0.15% 첨가하여 배양한 후 CMCase, FPase, xylanase 활성을 측정하여 인의 적정첨가량을 구명하였다.

2.2.6 금속염

최적의 탄소원, 질소원, 인을 첨가한 배지에 금속염으로 무첨가, MgSO_4 , ZnSO_4 , CaCl_2 , CuSO_4 , FeSO_4 를 각각 0.05%씩 첨가하여 배양한 후 CMCase, FPase, xylanase 활성을 측정하여 최적 금속염을 구명하였다.

선발된 금속염의 첨가량을 0.005~0.12% 첨가하여 배양한 후 CMCase, FPase, xylanase 활성을 측정하여 금속염의 적정첨가량을 구명하였다.

2.2.7 배양기간

구명된 최적의 pH, 온도, 배지에 12~84시간으로 배양시간을 연장시켜가면서 CMCase, FPase, xylanase 활성을 측정하여 적정 배양기간을 구명

하였다.

2.3 조효소액 조제 및 효소활성 측정

균주 배양액을 4000 rpm으로 30분 동안 원심분리하여 상침액을 조효소액으로 사용하였고, 효소활성은 전보¹⁰⁾와 동일하게 측정하였다.

2.4 대조균과의 효소활성 비교

*Thermomonospora fusca*를 대조균으로 사용하여 선발된 균주들과 효소활성을 비교하였으며, *T. fusca*의 배지조성(%) 및 배양조건은 다음과 같이 하였다.

- CMC 1, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.25, yeast extract 0.05, KH_2PO_4 0.27, Na_2HPO_4 0.53, NaCl 0.02, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.02, CaCl_2 0.005

- 55°C, pH 7.2, 72 Hr., 200 rpm

3. 결과 및 고찰

3.1 pH

배지의 pH를 4.0~10.0으로 조절하여 각각 30°C, 48시간의 조건으로 배양하고 CMCase, FPase, xylanase 활성을 측정한 결과는 Fig. 1과 같다.

배지의 초기 pH를 4.0~10.0으로 변화시켜가면서 효소활성을 살펴본 결과 *Bacillus pumilus* I, *B. subtilis* I, *B. pumilus* II, *B. subtilis* II의 효소생산 최적 pH는 각각 8.0, 9.0, 9.0, 8.0 이었는데, 이상의 결과에 의하면 균주들은 약알칼리 또는 알칼리에서 효소를 다량 분비하여 *Bacillus* sp.에서 xylanase 생산 최적 pH가 8.0이었다는 조¹¹⁾의 보고와 거의 일치하였다.

3.2 온도

최대활성의 pH로 배지를 조절하고 온도를 26~38°C로 변화시켜 배양한 후 CMCase, FPase, xylanase 활성을 측정한 결과는 Fig. 2와 같다.

배양온도에 따른 효소활성의 변화를 살펴본 결과 26~34°C의 중온에서 최대활성을 나타내었는데, *Bacillus pumilus* I, *B. subtilis* I, *B. pumilus* II, *B. subtilis* II의 효소생산 최적온도는 각각 28, 28,

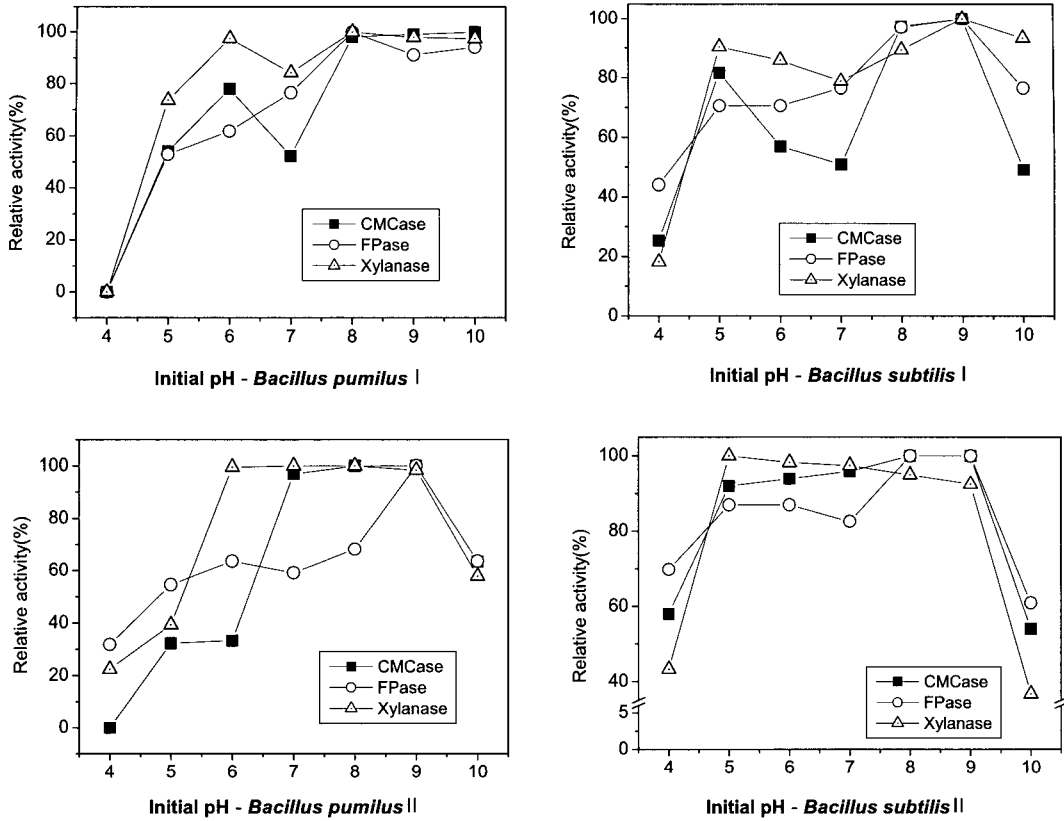


Fig. 1. Effect of initial pH on bacterial enzyme production.

28, 34°C이었다. 특히 *B. subtilis* II는 전반적으로 배양온도가 상승함에 따라 34°C 까지 효소활성이 증가하여 다른 균주보다 최적 배양온도가 높았다.

3.3 탄소원

무첨가, rice bran, avicel, xylan, CMC, rice

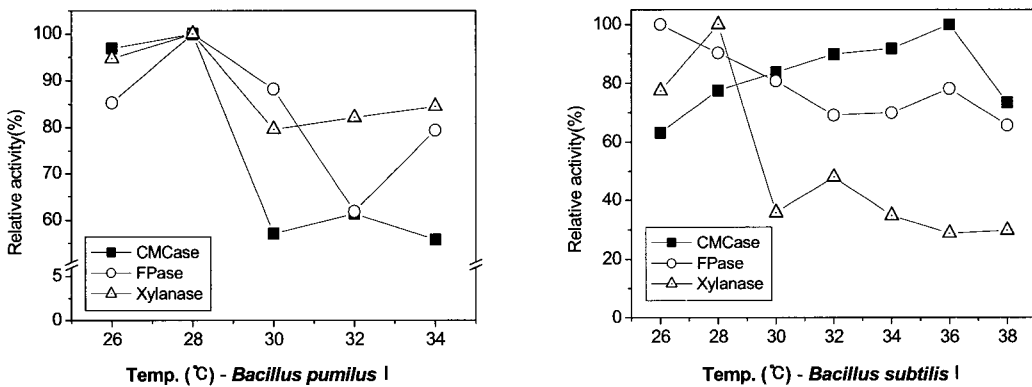


Fig. 2. Effect of temperature on bacterial enzyme production. (To the next page)

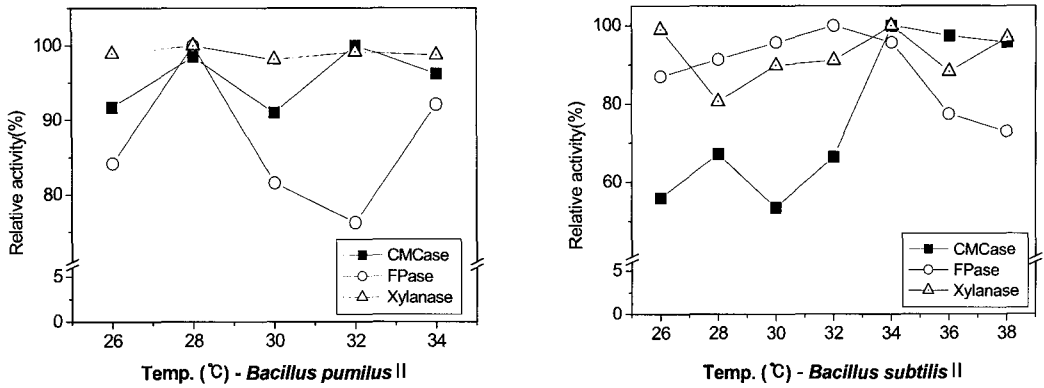


Fig. 2. Effect of temperature on bacterial enzyme production.

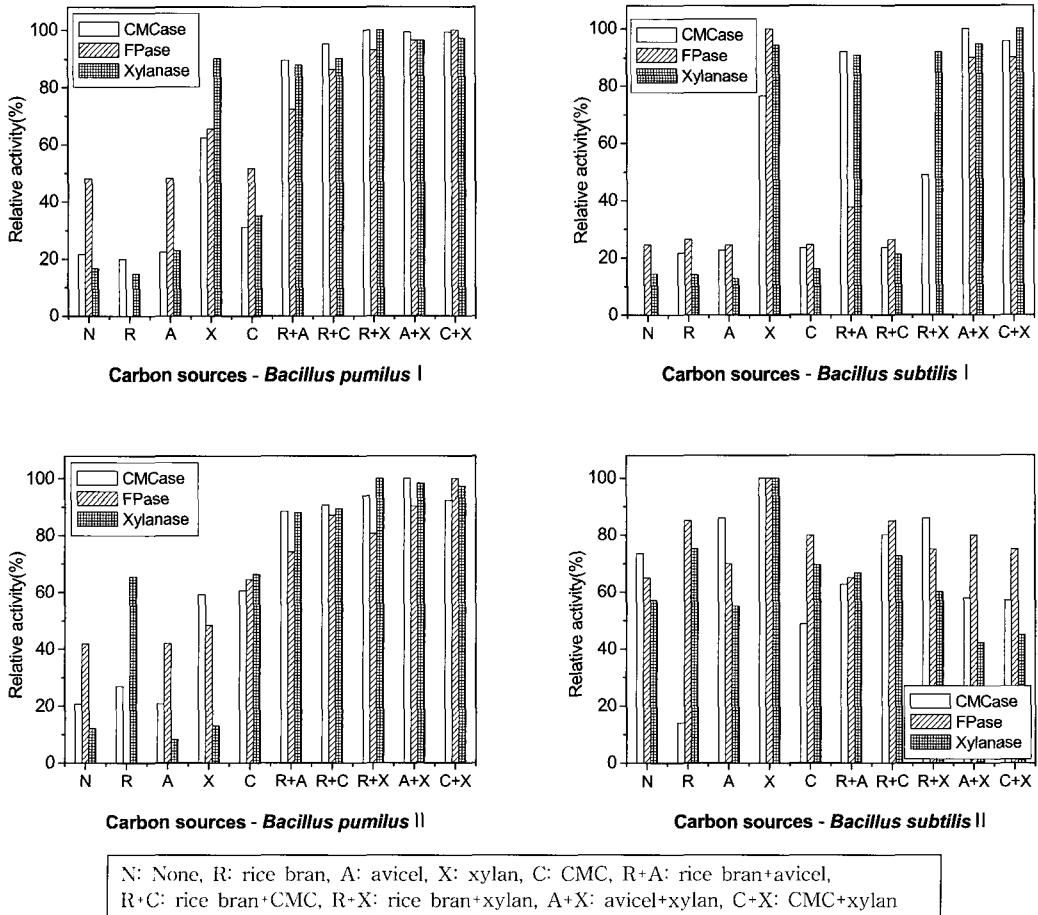


Fig. 3. Effect of different carbon sources on bacterial enzyme production.

bran+avicel, rice bran+CMC, rice bran+xylan, avicel+xylan, CMC+xylan 1.0%를 배지의 유일한 탄소원으로 첨가하여 배양한 후 CMCase, FPase, xylanase를 측정된 결과는 Fig. 3과 같다.

다양한 탄소원을 첨가하여 배양한 후 효소활성을 측정된 결과 *Bacillus pumilus* I, *B. subtilis* I, *B. pumilus* II은 복합탄소원이 단일 탄소원과 비교하여 높은 효소활성을 나타내어 각각 rice bran+xylan, avicel+xylan, avicel+xylan이 최적 탄소원이었고, *B. subtilis* II의 경우에는 xylan에서 세 효소 모두 가장 높은 효소활성을 나타내어 최적 탄소원으로 하였다. 이러한 결과는 윤 등¹²⁾ *Bacillus* sp. 79-23의 균주에서 cellulase를 생산하는데 있어서 최적 탄소원은 rice bran과 wheat bran 이었다는 보고와 김 등¹³⁾이 *Bacillus* sp.를 이

용한 xylanase 생산에 xylan이 최적 탄소원 이었다는 보고와 거의 일치한다.

3.4 탄소원 첨가량

각각의 최적 탄소원을 0.5~4.0%로 첨가하여 배양한 후 CMCase, FPase, xylanase 활성을 측정된 결과는 Fig. 4와 같다.

구명된 최적의 탄소원을 다양하게 첨가한 후 배양하여 효소활성을 측정된 결과 *Bacillus pumilus* I은 rice bran+xylan의 첨가량이 증가할수록 CMCase와 FPase의 활성은 증가하는 경향으로 3.0%에서 최고 활성을 나타내었으나 xylanase의 활성이 지속적으로 감소하여 이들 결과로 효소 생산에 2.0%의 rice bran+xylan이 적정 첨가량이었다. 또한 *B. subtilis* I, *B. pumilus* II, *B. subtilis*

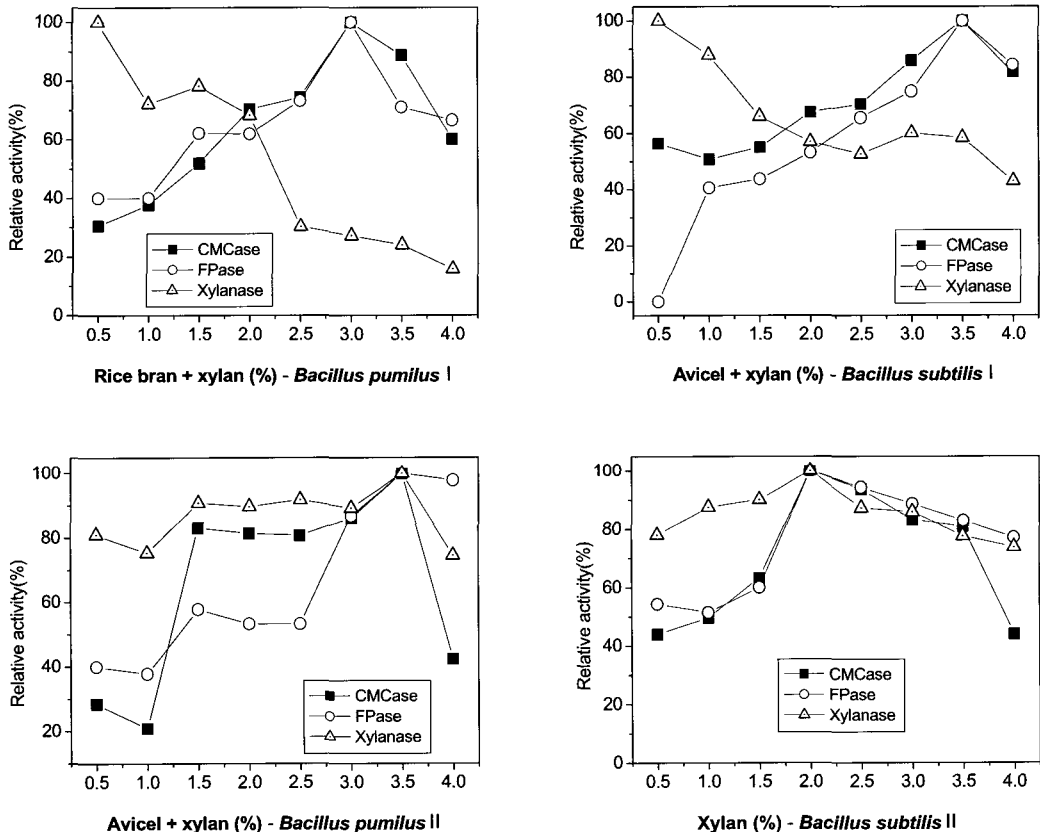


Fig. 4. Effect of various carbon concentrations on bacterial enzyme production.

II의 경우에서 탄소원의 적정 첨가량은 각각 avicel+xylan 3.5%, avicel+xylan 3.5%, xylan 2.0% 이었다.

3.5 질소원

최적 탄소원의 적정량을 첨가한 배지에 질소원으로 무첨가, peptone, yeast extract, urea, ammonium acetate, ammonium sulfate, yeast extract+peptone를 각각 0.5%씩 첨가하여 배양한 후 CMCase, FPase, xylanase를 측정하여 결과를 Fig. 5와 같다.

다양한 질소원을 첨가하여 배양한 후 효소활성을 측정하여 결과 *Bacillus pumilus* I, *B. subtilis* I,

B. pumilus II는 최적의 질소원으로 각각 peptone, urea, urea 이었다. 또한 *B. subtilis* II의 경우 CMCase와 xylanase 활성은 yeast extract에서 최고 활성을 나타내었으나 FPase의 상대활성이 낮았음에도 세 효소를 검토하여 볼 때 역시 yeast extract가 최적 질소원이었다. 다양한 질소원에 대한 검토에 대해 송 등¹⁴⁾과 조¹¹⁾는 *Bacillus* sp.에서 cellulase와 xylanase의 생산에 있어 최적 질소원은 yeast extract라는 결과를 보고하여 본 실험의 결과와 유사하였다.

3.6 질소원 첨가량

각각의 최적 질소원을 0.2~2.0%로 첨가하여 배

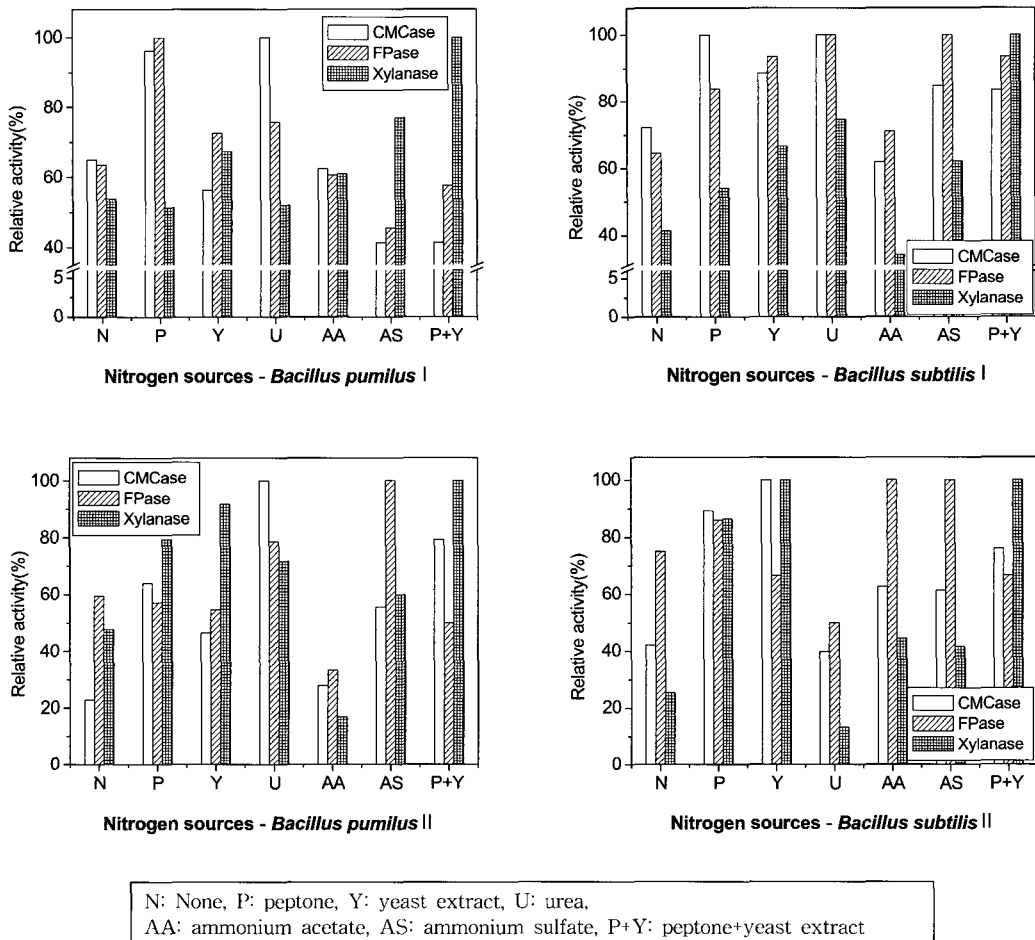


Fig. 5. Effect of different nitrogen sources on bacterial enzyme production.

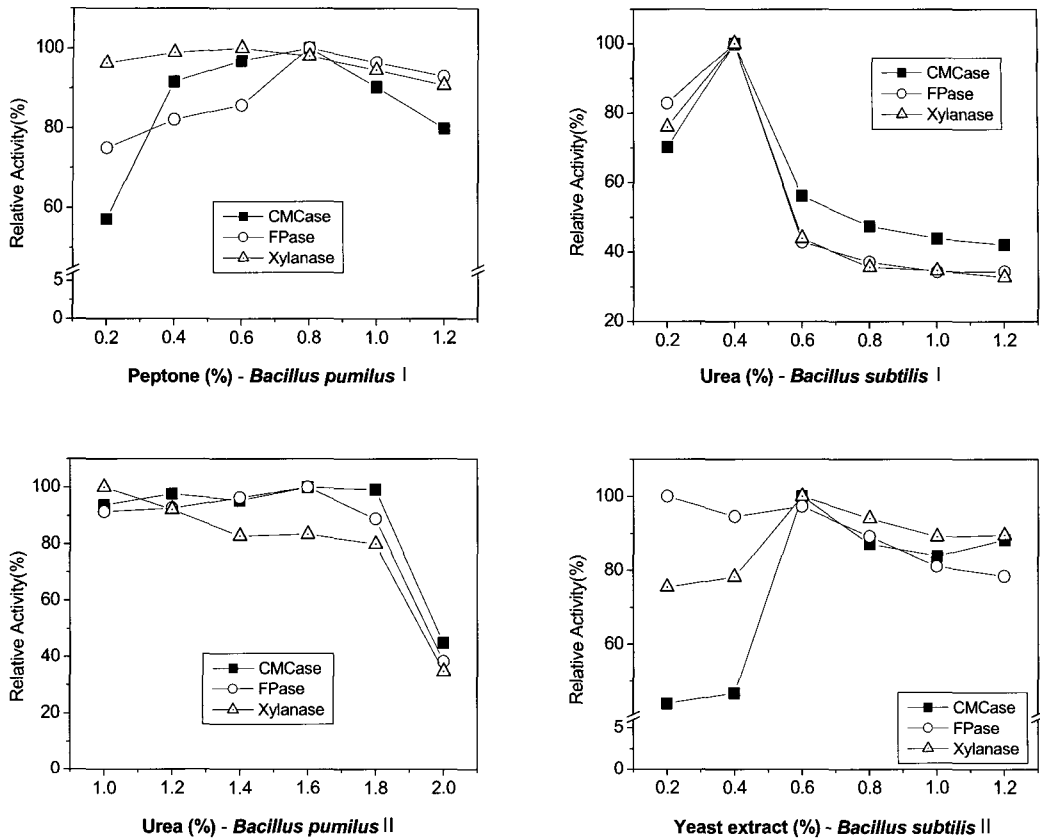


Fig. 6. Effect of various nitrogen concentrations on bacterial enzyme production.

양한 후 CMCase, FPase, xylanase를 측정된 결과는 Fig. 6과 같다.

각각의 최적 탄소원에 구명된 질소원을 여러 가지 농도로 첨가하여 배양한 후 효소활성을 측정된 결과 *Bacillus pumilus* I, *B. subtilis* I, *B. subtilis* II는 각각 peptone 0.8%, urea 0.4%, yeast extract 0.6%가 적정 첨가량이었다. 한편 *B. pumilus* II는 다른 균주와 비교하여 상당히 많은 양의 질소원을 요하였는데, urea 1.6%까지 지속적으로 CMCase와 FPase가 증가하여 최대활성을 나타내었고 xylanase 활성은 완만하게 감소하는 경향에 있어 적정 첨가량은 1.6% 이었다.

3.7 인원

각각의 최적 탄소원과 질소원을 첨가하고 인원

으로 무첨가, KH_2PO_4 , K_2HPO_4 , K_3PO_4 를 각각 0.1%씩 첨가하고 배양한 후 CMCase, FPase, xylanase 활성을 측정된 결과는 Fig. 7과 같다.

각 균주에 몇 가지 인원을 첨가하여 배양한 후 효소활성을 측정된 결과 *Bacillus pumilus* I, *B. pumilus* II, *B. subtilis* II의 최적 인원은 모두 K_2HPO_4 가 최적인원이었다. *B. subtilis* I는 무첨가와 비교할 경우 세 가지 인원 모두가 우수한 결과를 나타내었는데, 특히 CMCase와 FPase가 가장 높은 활성을 나타내는 K_3PO_4 가 최적 인원이었다.

3.8 인원 첨가량

각각의 균주에 최적 인원을 0.025~0.15%로 첨가하여 배양한 후 CMCase, FPase, xylanase 활성을 측정된 결과는 Fig. 8과 같다.

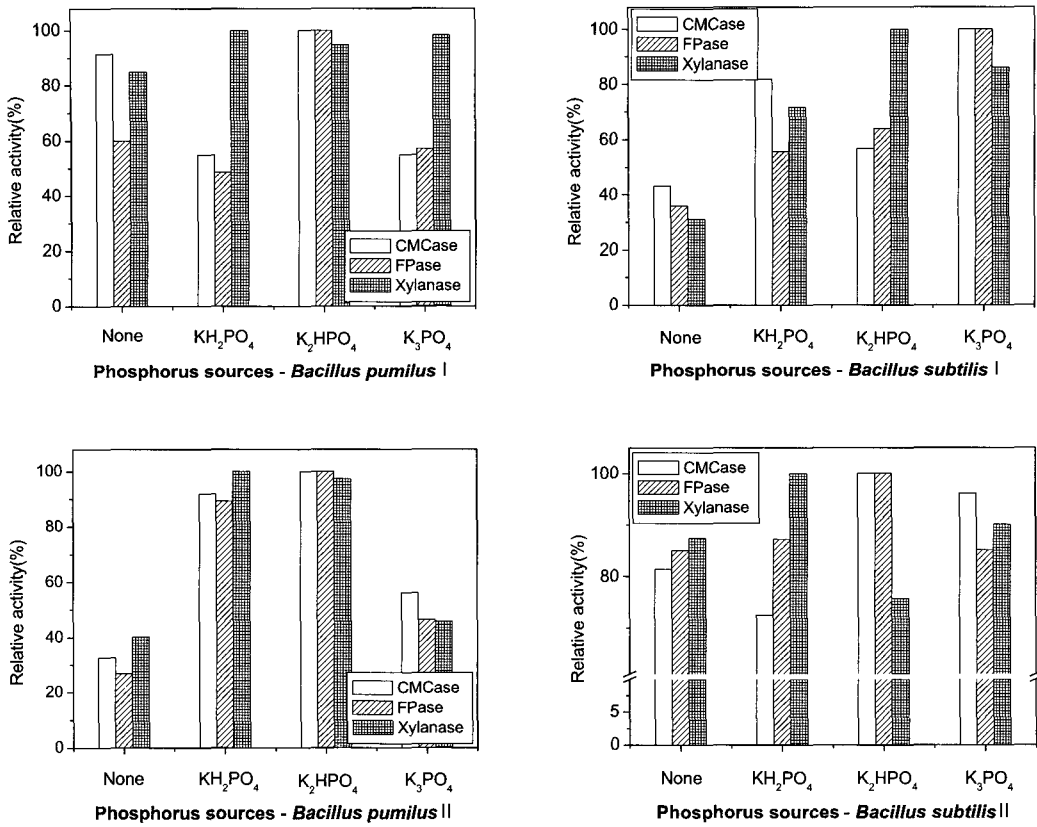


Fig. 7. Effect of different phosphorus sources on bacterial enzyme production.

각각의 균주에 최적 탄소원 및 질소원에 구명된 최적 인원을 다양한 농도로 첨가하여 배양한 후 효소활성을 측정된 결과 *Bacillus pumilus I*, *B.*

pumilus II, *B. subtilis II*는 K_2HPO_4 가 각각 0.1, 0.125, 0.1%가 적정 첨가량이었고, *B. subtilis I*의 경우에는 K_3PO_4 0.1%에서 CMCase와 FPase가

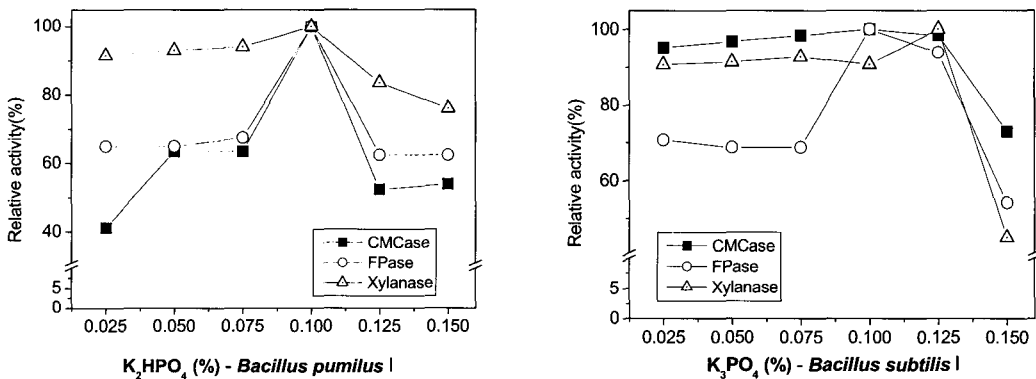


Fig. 8. Effect of various phosphorus concentrations on bacterial enzyme production. (To the next page)

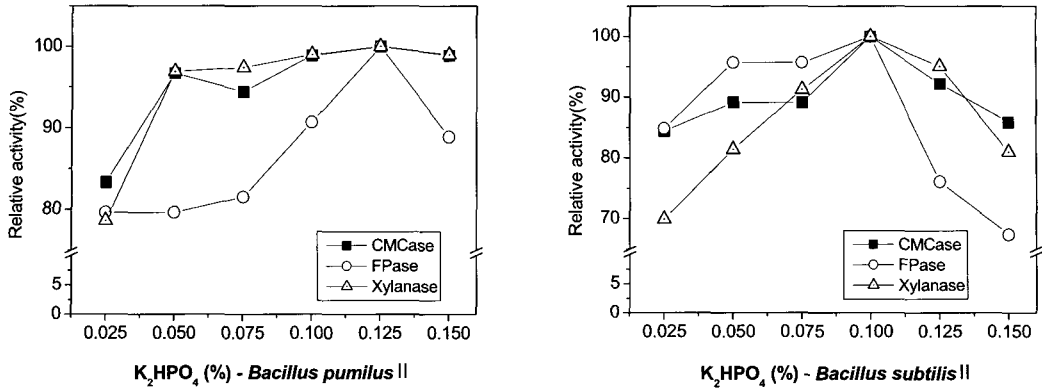


Fig. 8. Effect of various phosphorus concentrations on bacterial enzyme production.

최대활성을 나타내었고, xylanase 활성도 비교적 높은 수준으로 적정 첨가량은 0.1% 이었다.

3.9 금속염

최적의 탄소원, 질소원, 인을 첨가한 배지에 금속염을 무첨가, $MgSO_4$, $ZnSO_4$, $CaCl_2$, $CuSO_4$,

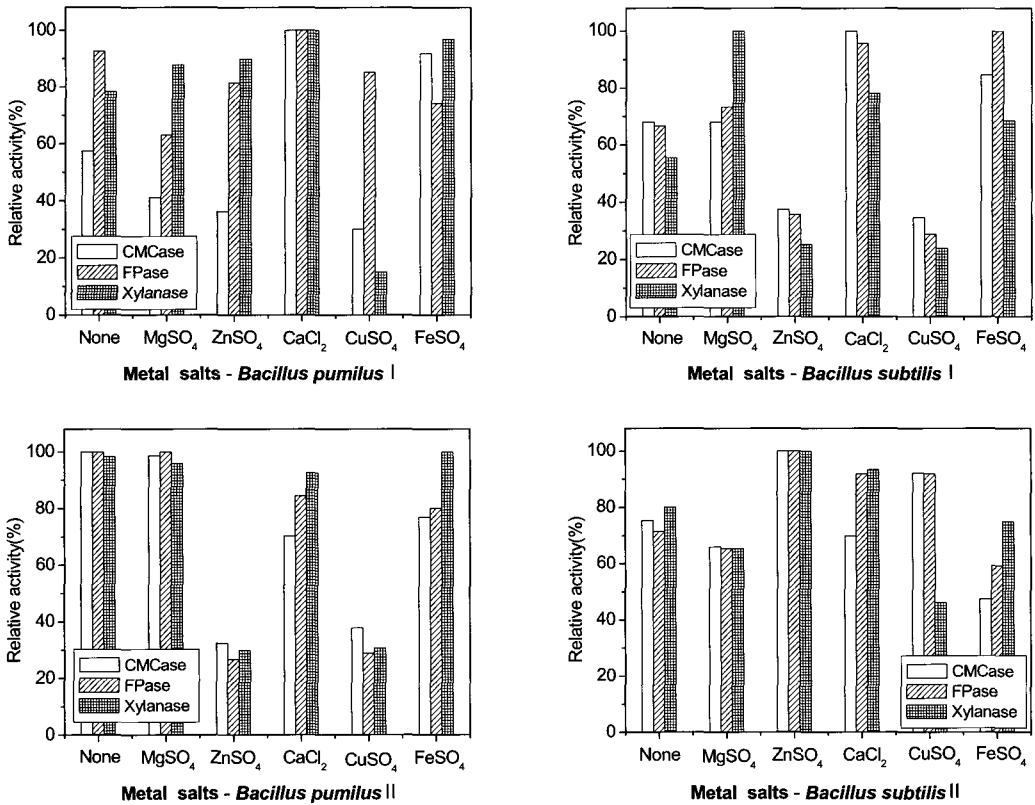


Fig. 9. Effect of different metal salts on bacterial enzyme production.

FeSO₄를 각각 0.05%씩 첨가하여 배양한 후 CMCase, FPase, xylanase 활성을 측정한 결과는 Fig. 9와 같다.

각 균주에 다양한 금속염을 첨가하여 배양한 후 효소활성을 측정한 결과 *Bacillus pumilus* I, *B. subtilis* I, *B. subtilis* II는 최적 금속염으로서 각각 CaCl₂, CaCl₂, ZnSO₄ 이었다. 그러나 *B. pumilus* II는 xylanase 활성의 경우에 있어서는 FeSO₄에서 최대 활성을 나타내었으나 전체적으로 보아 금속염을 첨가함에 따라 효소활성에 비관적인 결과를 나타내어 무첨가의 경우가 효소활성에 있어서 가장 높은 활성을 나타내었다고 할 수 있다.

3.10 금속염 첨가량

각각의 최적 금속염의 첨가량을 0.005~0.12%

첨가하여 배양한 후 CMCase, FPase, xylanase 활성을 측정한 결과는 Fig. 10과 같다.

각각의 균주에 최적 탄소원, 질소원 및 인원에 금속염을 다양을 농도로 첨가하여 배양한 후 효소활성을 측정한 결과 *Bacillus pumilus* I은 CMCase와 FPase의 경우 각각 CaCl₂ 0.04~0.12, 0.06% 이상에서 높은 활성을 나타내었고, xylanase 활성은 전 영역에서 높은 활성을 나타내어 적정 첨가량은 0.06%이었다. *B. subtilis* I과 *B. subtilis* II는 각각 CaCl₂ 0.015%, ZnSO₄ 0.1%에서 최대 활성을 나타내어 적정 첨가량이었다.

3.11 배양기간

구명된 최적의 pH, 온도, 배지에서 12~84시간으로 배양시간을 연장시켜가면서 CMCase,

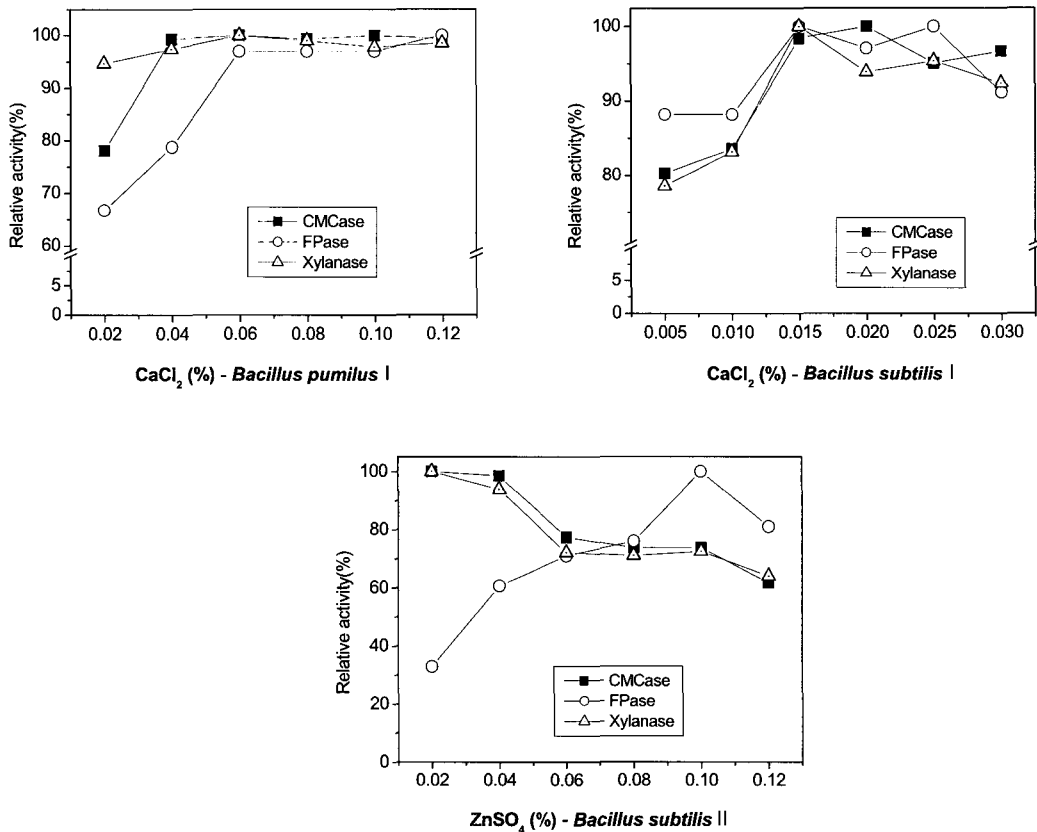


Fig. 10. Effect of various metal salt concentrations on bacterial enzyme production.

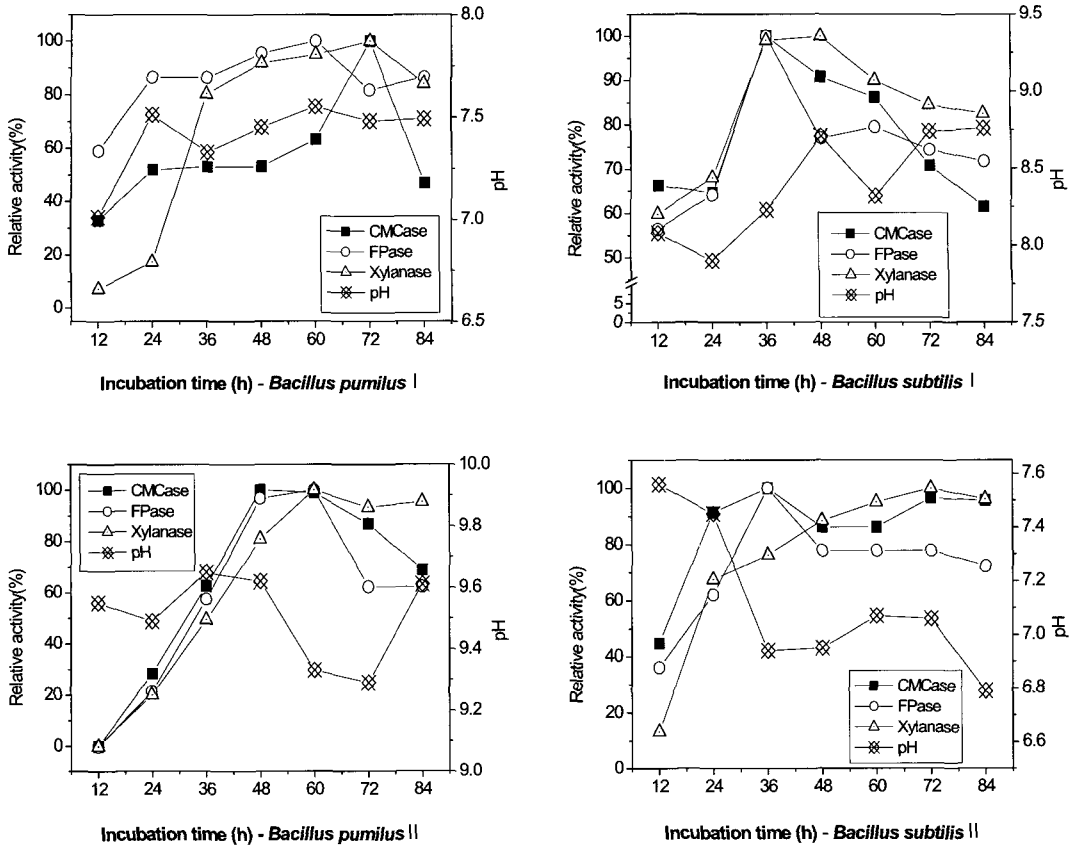


Fig. 11. Time course of bacterial enzyme production and pH.

FPase, xylanase 활성 및 pH 변화를 측정된 결과는 Fig. 11과 같다.

각각의 균주에 구명된 최적의 배양조건에서 배양시간에 따른 효소활성과 pH의 변화를 측정된 결과 *Bacillus pumilus* I, *B. subtilis* I, *B. pumilus* II, *B. subtilis* II의 최적 배양시간이 각각 72, 36, 60, 36시간이었고, pH의 변화는 중성 및 알칼리성

으로 큰 변화는 없었다.

3.12 대조균과의 효소활성 비교

각각의 균주를 최적 배양조건에서 배양했을 경우 효소활성을 대조균인 *Thermomonospora fusca*와 비교 결과는 Table 1과 같다.

최적 배양조건에서 배양한 후 효소활성을 측정

Table 1. Comparison of enzyme activities between selected bacteria and *Thermomonospora fusca*

unit: IU/ml

Species	CMCase	FPase	Xylanase
<i>Thermomonospora fusca</i>	1.45	0.25	1.34
<i>Bacillus pumilus</i> I	0.79	0.18	4.75
<i>B. subtilis</i> I	0.65	0.39	0.96
<i>B. pumilus</i> II	0.98	0.61	1.94
<i>B. subtilis</i> II	0.58	0.36	2.18

하여 대조균과 비교했을 경우 *Thermomonospora fusca*의 CMCase, FPase, xylanase는 각각 1.45, 0.25, 1.34 IU/ml의 활성을 나타내었다. *Bacillus pumilus* I의 경우 CMCase와 FPase는 현저하게 낮았으나 xylanase는 4.75 IU/ml로 월등하게 우수한 결과를 나타내었고, *B. subtilis* I의 경우 FPase는 대조균보다 높았으나 CMCase와 xylanase는 낮았다. *B. pumilus* II와 *B. subtilis* II의 경우에는 CMCase는 낮았지만 FPase와 xylanase는 상당히 높은 결과를 나타내었다. 상기의 결과로 볼 때 선발 균주의 효소들은 cellulase 생산이 우수한 것으로 알려진 *T. fusca*와 비슷한 활성을 가지고 있고 또한 탈목에 적용함에 있어서 충분한 가능성이 있다고 사료된다.

4. 결론

본 연구는 자연계에서 분리하고 CMCase, FPase, xylanase 활성이 우수한 4종의 bacteria로부터 효소활성의 최적 배양조건을 검토하기 위해 수행되었고, 그 결과 *Bacillus pumilus* I의 최적 배양조건은 rice bran+xylan 2.0%, peptone 0.8%, K_2HPO_4 0.1%, $CaCl_2$ 0.06%, pH 8.0, 28°C, 72시간 이었고, *B. subtilis* I은 avicel+xylan 3.5%, urea 0.4%, K_3PO_4 0.1%, $CaCl_2$ 0.015%, pH 9.0, 28°C, 36시간이 최적 배양조건이었다. 또한 *B. pumilus* II의 최적 배양조건은 avicel+xylan 3.5%, urea 1.6%, K_2HPO_4 0.125%, pH 9.0, 28°C, 60시간이었으며, *B. subtilis* II는 xylan 2.0%, yeast extract 0.6%, K_2HPO_4 0.1%, $ZnSO_4$ 0.04%, pH 8.0, 34°C, 36시간이 최적 배양조건이었다. 또한 최적배양조건에서의 효소활성은 대조균인 *Thermomonospora fusca*와 유사하였다.

인용문헌

1. 한국제지공업연합회. 아시아를 중심으로 확대되고 있는 세계 종이·판지 생산과 소비. 제지계, 337: 12-20 (2000).
2. 손광희, 복해성, 오세균. 고지 탈목용 Cellulase 및 Xylanase 생산. Kor. J. Appl. Microbiol. Biotech., 20(5) : 527-533 (1992).
3. Sreenath K Hassan, Vina W. Yanf, Harold H. Burdsall, Jr., and Thomas W. Jeffrees. Toner Removal by Alkaline-Active Cellulase from Desert Basidimycetes. Enzymes for Pulp and Paper Processing, p. 267-279 (1996).
4. Jung-Myoung Lee and Tae-Jin Eom. Enzymatic Deinking of Old Newsprint with Alkalophilic Enzymes from *Coprinus cinereus* 2249. J. Korea TAPPI, 31(5) : 12-17 (1999).
5. U. Viesturs, M. Leite, M. Eisimonte, T. Ereemeeva, A. Treimanis. Biological deinking technology for the recycling of office waste papers. Bioresource Technology, 67 : 255-265 (1999).
6. 최동철, 허남윤, 유주현, 오두환. *Cellulomonas* sp. YE-5가 생산하는 Cellulase의 정제. Kor. J. Appl. Microbiol. Biotech., 18(4) : 376-382 (1990).
7. 임상호, 윤민호, 최우영. 호알칼리성 섬유소분해세균 *Pseudomonas* sp.의 분리 및 특성. J. Agri. Sci. Chungnam Nat'l Univ., Korea, 25(1) : 124-130 (1998).
8. 송현숙, 최용진. *Bacillus stearothermophilus*에 의한 Xylanase 생산. Kor. J. Appl. Microbiol. Biotech., 17(4) : 289-294 (1989).
9. 안준배, 박현국, 이계호. Xylanase 생산성 *Bacillus* sp. GS의 분리 및 동정. Kor. J. FOOD & NUTR., 7(1) : 8-15 (1994).
10. 박성철, 강진하, 이양수. 미생물 효소를 이용한 고효율 효소탈목제의 개발(제1보). J. of KTappi, 35(1) : 34-40 (2003).
11. 조남철. *Bacillus* sp. DSNG에 의한 Xylanase 생산. Kor. J. FOOD & NUTR., 10(3) : 344-349 (1997).
12. 윤기홍, 정경화, 박승환. Cellulase를 생산하는 *Bacillus* sp. 79-23 분리와 효소 생산성. Kor. J. Appl. Microbiol. Biotech., 25(6) : 546-551 (1997).
13. 김대준, 신한재, 민본홍, 윤기홍. 내열성 Cellulase-free Xylanase를 생산하는 고온성 *Bacillus* sp.의 분리 및 효소 특성. Kor. J. Appl. Microbiol. Biotech., 23(3) : 304-310 (1995).
14. 송현숙, 최용진. *Bacillus stearothermophilus*에 의한 Xylanase 생산. Kor. J. Appl. Microbiol. Biotech., 17(4) : 289-294 (1989).