

ORIGINAL ARTICLE

## Endoglucanase와 $\beta$ -Glucosidase 효소에 의한 셀룰로오스 생분해 모델링

조선주 · 김태욱 · 조대철\*

순천향대학교 에너지환경공학과

## Cellulose Biodegradation Modeling Using Endoglucanase and $\beta$ -Glucosidase Enzymes

Sun-joo Cho, Tae-wook Kim, Daechul Cho\*

Department of Environmental Engineering, Soonchunhyang University, Asan 31538, Korea

### Abstract

In this study, a biodegradation model of based on molecular cellulose was established. It is a mathematical, kinetic model, assuming that two major enzymes randomly break glycosidic bonds of cellulose molecules, and calculates the number of molecules by applying the corresponding probability and degradation reaction coefficients. Model calculations considered enzyme dose, cellulose chain length, and reaction rate constant ratio. Degradation increased almost by two folds with increase of temperature ( $5^{\circ}\text{C} \rightarrow 25^{\circ}\text{C}$ ). The change of degradation was not significant over the higher temperatures. As temperature increased, the degradation rate of the molecules increased along with higher production of shorter chain molecules. As the reaction rates of the two enzymes were comparative the degree of degradation for any combinations of enzyme application was not affected much. Enzyme dose was also tested through experiment. While enzyme dose ranged from 1 mg/L to 10 mg/L, the gap between real data and model calculations was trivial. However, at higher dose of those enzymes ( $>15$  mg/L), the experimental result showed the lower concentrations of reductive sugar than the corresponding model calculation did. We determined that the optimal enzyme dose for maximum generation of reductive sugar was 10 mg/L.

**Key words** : Biodegradation, Cellulose, Enzyme, Modeling, Reducing sugar

### 1. 서론

탄수화물에는 많은 종류의 다당류, 소당류, 단당류 등이 존재한다. 여기서 가장 큰 비중을 차지하는 것은 셀룰로오스이다. 셀룰로오스는 환원당으로 가수분해 되어 바이오 연료 생산을 위해 필요한 중심 원료로 사용되고 있다(Akyol et al., 2018). 셀룰로오스를 환원당으로 전환시키는 공정은 크게 두 가지로, 산분해와 효소분해이다.

그러나 산분해는 고온 운전으로 인해 에너지 소모가 크고 부식이 일어나기 때문에 효소 가수분해 공정을 더욱 선호한다(Apaydin et al., 2011).

셀룰로오스의 가수분해가 효소인 셀룰라아제에 의해 이루어지게 되면 환원당으로 전환되는 효율이 높아지고 환경 친화적이며 연속적인 반응이 가능하기 때문에 셀룰라아제를 활용하는 것이 유용하다(Gong et al., 2016). 환원당은 다른 물질을 환원시키는 성질의 당질을 의미

Received 23 December, 2021; Revised 26 February, 2022;  
Accepted 28 February, 2022

\*Corresponding author: Daechul Cho, Department of Environmental Engineering, Soonchunhyang University, Asan 31538, Korea.  
Phone : +82-41-530-1341  
E-mail : daechul@sch.ac.kr

© The Korean Environmental Sciences Society. All rights reserved.  
This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

하는데, 여기에는 맥아당, 젓당, 과당, 포도당 등이 포함된다. 셀룰로오스처럼 사슬의 길이가 길고 다른 물질을 환원시키지 못하는 당류는 가수분해하여 환원당으로 전환시킨 후 정량할 수 있다.

셀룰로오스가 생분해되는 정도를 확인할 수 있는 환원당 정량법에는 Bertrand 법, Somogyi 법, Schoorl 법, Lane-Eynone 법, Dinitrosalicylic acid에 의한 비색법 등이 있다. 제조 시약에 환원당을 첨가하고 일정한 조건에서 가열하면  $Cu_2O$  침전이 생성되는 Bertrand 법은 이 침전물의 양이 환원당의 양에 비례하기 때문에 Bertrand 표에서 이 침전물의 양과 상응하는 당량을 구하여 환원당량을 정량할 수 있다(Moresco et al., 2008). Somogyi 법은 환원당량이 극소량일 때 주로 사용하는데, 알칼리성 시약에 당을 첨가하여 가열하면 아산화동이 생성된다. 아산화동을 산화시키면서 필요로 하게 되는 요오드량을 구하고 그 값으로부터 환원당의 양을 산출할 수 있다(Kim et al., 1990). 용해성 물질에 단백질을 함유하지 않을 때 환원당을 측정하기에 적절한 방법은 Schoorl 법이다. 이는 Somogyi 법과 마찬가지로 미량의 환원당을 정량할 때 사용하며, 알칼리성 환경에서 2가의 구리이온 환원과 첨가된 시약의 역 적정을 통해 환원당을 정량한다(Dekker, 1950). Lane-Eynone 법은 Bertrand 법의 순서를 역으로 바꿔서 환원당을 정량하는 방법이다. 용액에 환원당을 첨가하고 그에 따라 추출되는 아산화동의 무게를 측정된 뒤, methylene blue로 적정하여 당류 정량표와 대조해 환원당량을 측정할 수 있다(Brown and Hildreth, 1942). Dinitrosalicylic acid(DNS)에 의한 비색법은 3,5-dinitrosalicylic acid가 환원되어 생성된 3-amino-5-nitrosalicylic acid의 흡광도를 측정해 환원당의 정량을 측정하는 방법이다. DNS 환원당 정량법은 다른 환원당 정량 방법에 비해 결과값 산출에 대한 편의성이 뛰어나기 때문에 최근에 많은 연구자들이 사용하고 있다(Miller, 1959).

셀룰로오스는 글루코스 단위가 4개인  $\beta$ -1의 긴 선형 사슬로 구성되는데, 사슬 상태인 셀룰로오스를 가수분해할 때 복합효소인 셀룰라아제의 세 가지 구성성분이 가수분해에 관여한다. 여기서, 구성성분은 endoglucanase, cellobiohydrolase,  $\beta$ -glucosidase가 있다. 셀룰로오스의 무정형 부분을 무작위로 가수분해하는 효소인 endoglucanase는 셀룰로오스 분자 말단기의 수를 증가

시키며, cellobiohydrolase는 셀로비오스 형성을 위해 말단 그룹에서 모든 글리코시드 결합을 절단함으로써 기질을 해리한다(Jang et al., 1995).  $\beta$ -glucosidase는 2개의 글루코스 분자가 글리코사이드 결합으로 연결된 이당류인 셀로비오스를 단당류인 글루코스로 분해한다(Kim et al., 2020). 그러나 셀룰로오스를 무작위로 가수분해시키는 endoglucanase의 기능과 글리코시드 결합을 절단하는 cellobiohydrolase의 기능이 중복된다는 의견은 수십 년 동안 논의되어 온 바 있다(Johansson et al., 1993).

그러므로 본 연구에서는 cellobiohydrolase를 제외한 endoglucanase와  $\beta$ -glucosidase 두 효소만을 사용하여 셀룰로오스를 생분해시키는 모델을 설계하였다. MATLAB 프로그램을 활용하여 모델을 계산하고, 그 결과를 시뮬레이션을 통해 그래프로 나타내었다. 또한, 셀룰로오스를 두 효소로 생분해시켜 DNS 법으로 환원당을 정량하는 실험을 진행하여 시뮬레이션 결과와 비교하였다.

## 2. 이론 및 방법

### 2.1. 셀룰로오스 생분해 모델

본 연구에서는 endoglucanase와  $\beta$ -glucosidase 두 효소만을 사용하여 셀룰로오스를 생분해시키는 모델을 개발하였으며, 셀룰로오스가 각 효소에 의해 생분해되는 과정을 Fig. 1과 같이 표현할 수 있었다. 길이가  $i$ 인 셀룰로오스의 농도가 효소의 반응속도와 반응 확률, 온도 등을 고려하여 점차 감소하는 결과를 보여주며, 셀룰로오스의 농도가 감소함에 따라 생성되는 환원당의 농도가 증가하는 결과를 함께 확인할 수 있다. 효소에 의한 생분해 반응식은 식 (1)과 같이 나타낼 수 있다.

$$\frac{dC_i}{dt} = -k_i^\alpha p_i^\alpha C_i - k_i^\beta p_i^\beta C_i \quad (1)$$

여기서,  $C_i$ 는 길이가  $i$ 인 셀룰로오스의 농도,  $k$ 는 각 효소의 분해반응속도,  $p$ 는 셀룰로오스 분자의 반응확률을 나타낸다.  $k_i$ 와  $p_i$ 는 사슬길이 및 온도, 농도의 함수로 가정하였으며,  $\alpha$ 는 endoglucanase를,  $\beta$ 는  $\beta$ -glucosidase를 의미한다.

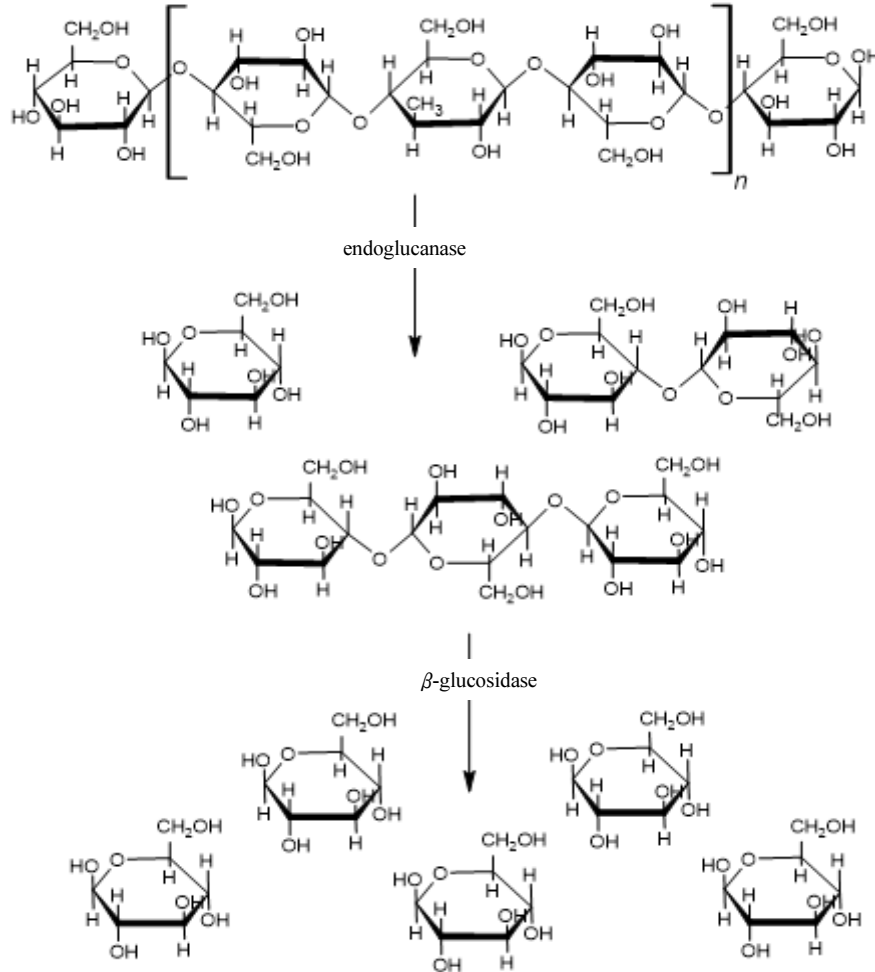


Fig. 1. Biodegradation process of cellulose by enzymes.

반응속도상수는 Jang et al.(1995)이 보고한 문헌에서 endoglucanase 효소에 의한 셀룰로오스 가수분해 반응 속도를 계산해  $1.83 \times 10^{-3} s^{-1}$ 의  $k$ 값을 도출하였다. 또한,  $\beta$ -glucosidase 반응속도상수는 Kim et al.(2020)이 보고한 문헌에서 *A. fumigatus*, *M. grisea*, *A. nidulans*, *P. oxalicum* 네 종류의 미생물로부터 추출한 endoglucanase 효소의 반응속도상수 평균을 계산해  $2.07 \times 10^{-3} s^{-1}$ 의  $k$ 값을 도출하였다. endoglucanase 효소의 추출시간은 18시간이고  $\beta$ -glucosidase 효소의 추출시간은 1시간이었으며, 두 효소는 모두 25°C의 온도에

서 추출되었다.

$$k_i^j = k_i^j(i, T) \text{ for } j = \alpha \text{ or } \beta \quad (2)$$

$$p_i^j = p_i^j(C_i, i) \text{ for } j = \alpha \text{ or } \beta \quad (3)$$

$k_i^j$ 는 *Trichoderma*의 양( $\geq 5,000$  units/g)을 고려하였으며,  $p_i^j$ 는 식 (4)와 같이 통계학적 입자 분포모델인 Maxwell-Boltzmann 분포를 고려하였다.

$$p(v) = 4\pi v^2 \left(\frac{m}{2\pi kT}\right)^{\frac{3}{2}} \exp\left(-\frac{mv^2}{2kT}\right) \quad (4)$$

$$v = \sqrt{\frac{8RT}{\pi M}} \quad (5)$$

$k_i^j$ 는 Arrhenius식을 활용하였고 25°C에서 식에 필요한 인자인 기체상수( $R$ )와 셀룰로오스의 활성화 에너지( $E_0$ )는 8.314 J/K·mol와 182.4 KJ mol<sup>-1</sup>를 각각 적용하였다(Hassan and Nada, 2000).

$$k = k_0 e^{-(E_0 - E_0)/RT} \quad (6)$$

제한 조건은 식 (7)과 같으며, 분해 전 사슬길이의 총합은 분해 후 반복단위(glucose unit)의 총 합과 같다(물질수지; 물질 보존의 법칙).

$$\sum_i^N C_i = \sum_j^N C_{0,j} \quad (7)$$

## 2.2. 모델 해석

셀룰로오스 생분해 모델은 MathWorks사의 MATLAB (R2021b) 프로그램을 사용하여 계산 및 시뮬레이션 하였다. 여기서, ode45라는 solver를 활용하여 모델을 계산하고, 결과 값이 그래프로 표시될 수 있도록 하였다.

## 2.3. 재료 및 시약

실험에 사용된 셀룰로오스(GF01459762)는 Sigma-Aldrich사에서 천연제품이며 두께가 0.021 mm인 제품을 구매하였다. 가수분해를 위해 사용한 효소는 셀룰로오스와 같은 회사에서 endoglucanase(E2164)와  $\beta$ -Glucosidase(G0395)를 구매하였다. DNS 환원당 정량 방법에 사용한 시약인 NaOH, potassium sodium tartarate, 3,5-dinitrosalicylic acid는 모두 1급 이상을 사용하였으며, 흡광도 측정에 사용한 분광광도계는 HUMAS사의 HS3300 모델을 사용하였다.

## 2.4. DNS법을 활용한 환원당 정량 실험

셀룰로오스의 생분해 모델의 신뢰성을 증명하기 위해서는 환원당을 측정하여 결과의 유사도를 비교할 필요가 있다. 그러므로 본 연구에서는 DNS법을 활용한 환원당

정량법으로 실험을 진행하였다. 환원당 표준용액은 글루코스 100 mg을 증류수 100 ml에 녹여서 제조하였고, 모델과 비교할 시료는 천연 셀룰로오스 100 mg을 증류수 100 ml에 녹여서 제조하였다.

DNS 시약을 만들 때, 필요에 따라 시약의 비율을 조절하여 만들 수 있으므로, 시약의 양을 절반으로 줄여 사용하였다. 실험에 필요한 2N NaOH 시약은 100 ml의 증류수에 NaOH를 8 g 녹여서 제조하였으며, 100 ml의 2N NaOH용액에 3,5-dinitrosalicylic acid 시약 5 g을 넣어 가열시켰다.

Potassium sodium tartarate 150 g을 250 ml의 증류수에 녹이고 3,5-dinitrosalicylic acid를 첨가한 2N NaOH용액과 섞은 후, 최종 부피가 500 ml가 되도록 증류수를 더해주었다. 표준용액의 환원당을 측정하기 위해 6개의 100 ml 부피 플라스크에 표준용액을 0.0 ml, 0.2 ml, 0.4 ml, 0.6 ml, 0.8 ml, 1.0 ml를 첨가하고 증류수를 각각 8.0 ml, 7.8 ml, 7.6 ml, 7.4 ml, 7.2 ml, 7.0 ml씩 더해주었다. 각 플라스크에 2 ml의 DNS 시약을 첨가하고 마개로 막아 100°C 물에 10분간 중탕한 후 찬물에 담가 10분 간 냉각 시켜 분광광도계로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 흡광도를 통해 standard curve를 제작하였으며, 모델과 비교할 시료는 120시간 동안 진탕배양기에서 25°C, 90 rpm으로 생분해시켜 표준용액과 같은 방법으로 실험을 진행하였다.

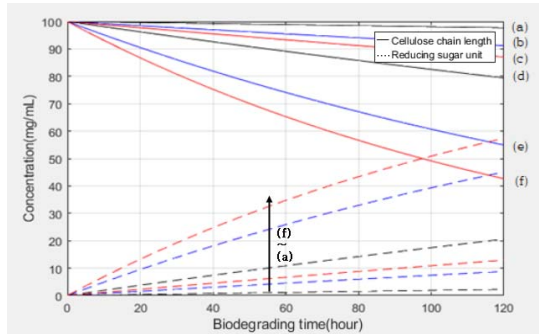
## 3. 결과 및 고찰

3.1~3.3 절에서는 효소 투입, 셀룰로오스 사슬 길이, 반응속도 상수 비율 변화에 따른 계산 결과를 제시하였고, 3.4에는 실제 실험 데이터를 제시, 고찰하였다.

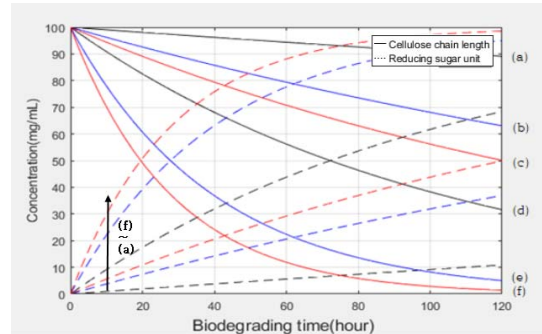
### 3.1. 효소 투입 변화

음식 폐기물에 존재하는 셀룰로오스 사슬의 반복 단위가 10<sup>5</sup>개가 된다고 가정하였을 때, 이 사슬 길이를 기준으로 한 셀룰로오스의 농도가 100 mg/ml에서 생분해되는 경우를 계산하였다. 효소의 반응속도상수는 2. 이론 및 설명에서와 같이 endoglucanase 반응속도상수  $k$ 를 1.83×10<sup>-3</sup> s<sup>-1</sup>,  $\beta$ -glucosidase 반응속도상수  $k$ 를 2.07×10<sup>-3</sup> s<sup>-1</sup>로 적용하였다.

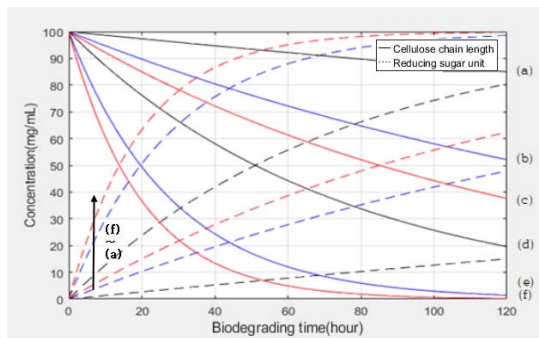
Endoglucanase와  $\beta$ -glucosidase의 비율은 1:1로



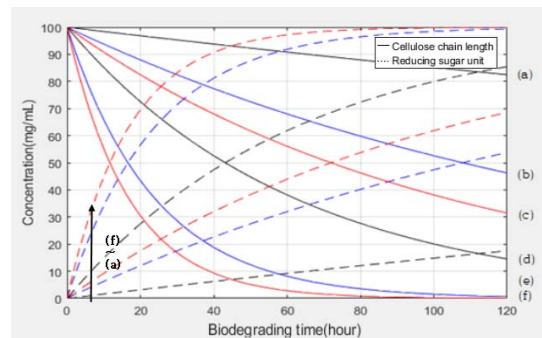
**Fig. 2.** Changes of cellulose chain length and reducing sugar unit with amount of mixed enzyme at 5°C. (a) 1 mg/l (b) 5 mg/l (c) 10 mg/l (d) 15 mg/l (e) 30 mg/l (f) 50 mg/l.



**Fig. 3.** Changes of cellulose chain length and reducing sugar unit with amount of mixed enzyme at 25°C. (a) 1 mg/l (b) 5 mg/l (c) 10 mg/l (d) 15 mg/l (e) 30 mg/l (f) 50 mg/l.



**Fig. 4.** Changes of cellulose chain length and reducing sugar unit with amount of mixed enzyme at 40°C. (a) 1 mg/l (b) 5 mg/l (c) 10 mg/l (d) 15 mg/l (e) 30 mg/l (f) 50 mg/l.



**Fig. 5.** Changes of cellulose chain length and reducing sugar unit with amount of mixed enzyme at 60°C. (a) 1 mg/l (b) 5 mg/l (c) 10 mg/l (d) 15 mg/l (e) 30 mg/l (f) 50 mg/l.

맞추어 효소첨가량이 각 1 mg/l, 5 mg/l, 10 mg/l, 15 mg/l, 30 mg/l, 50 mg/l이 되도록 하였다. 이 때 감소하는 셀룰로오스 농도를 저온 5°C부터 상온 25°C, 고온 40°C, 최고온 60°C까지 변화시킨 모델의 운용 결과를 Fig. 2~5에 나타내었다. 생분해 온도가 60°C 이상으로 올라가게 되면 고온에서 버티지 못하는 효소들이 반응에 참여하지 못하기 때문에 최고온은 효소의 활성 온도에 맞추어 지정할 수 있었다.

저온인 5°C에서 셀룰로오스의 농도가 감소하는 결과를 Fig. 2와 같이 나타낼 수 있었다. 효소를 1 mg/l 첨가하였을 때 약 3% 감소하였으며, 5 mg/l 첨가하였을 때는

약 8.5% 가량이 감소하였다. 10 mg/l 첨가하였을 때는 약 13% 가량 감소하는 결과가 나타났고, 각각 15 mg/l, 30 mg/l, 50 mg/l로 점차 증가시켜 첨가하였을 때는 약 21%, 45%, 57% 정도가 감소하였다. 효소의 양을 증가시키에 따라 셀룰로오스의 농도가 감소하는 비율이 증가하는 결과를 확인할 수 있었다.

Fig. 3에는 25°C 상온에서의 셀룰로오스 농도 감소 결과를 나타내었다. 저온인 5°C와 비교하였을 때 상온에서의 생분해 반응 속도가 평균 2배가량 증가한 결과를 확인할 수 있다. 효소를 1 mg/l 첨가하였을 때 셀룰로오스의 농도가 약 11% 감소하였으며, 5 mg/l 첨가하였을 때는

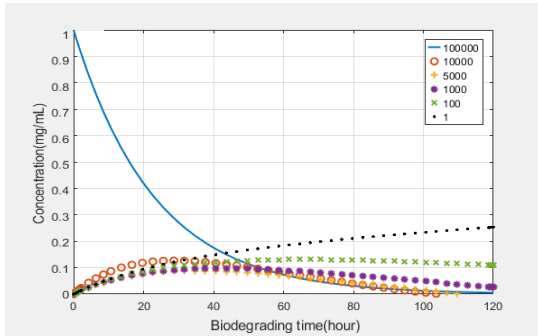


Fig. 6. Reducing chain length when biodegraded at 5°C low temperature.

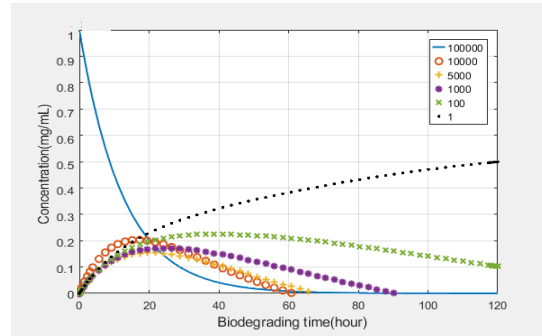


Fig. 7. Reducing chain length when biodegraded at 25°C standard temperature.

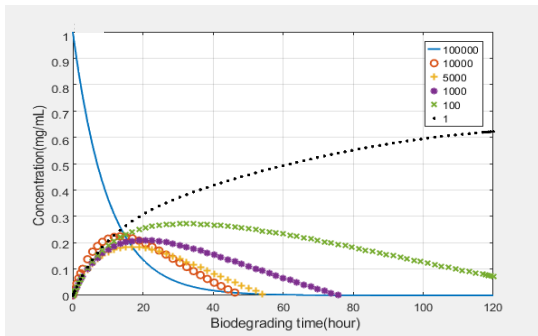


Fig. 8. Reducing chain length when biodegraded at 40°C high temperature.

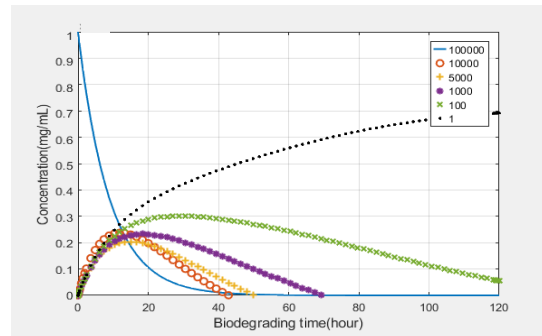


Fig. 9. Reducing chain length when biodegraded at 60°C highest temperature.

약 37% 감소하였다. 10 mg/l 첨가하였을 때는 약 50% 정도 감소하는 결과가 나타났고, 15 mg/l를 첨가하였을 때는 약 68%, 30 mg/l, 50 mg/l를 첨가하였을 때는 약 94%, 99% 정도가 감소하는 결과가 나타났다.

그러나, 온도가 5°C에서 25°C로 올라갔을 때와 다르게 고온인 40°C(Fig. 4)로 올리게 되면 반응 속도는 증가하지만 25°C에서의 결과와 육안으로 큰 변화를 확인할 수 없다. 40°C에서는 효소를 1 mg/l 첨가하였을 때 약 15% 가량 감소하였으며, 5 mg/l 첨가하였을 때는 약 48% 감소하였다. 10 mg/l 첨가하였을 때는 약 62% 가량 감소하는 결과가 나타났고, 각각 15 mg/l, 30 mg/l, 50 mg/l로 점차 증가시켜 첨가하였을 때는 약 80%, 98%, 100%가 감소하였다.

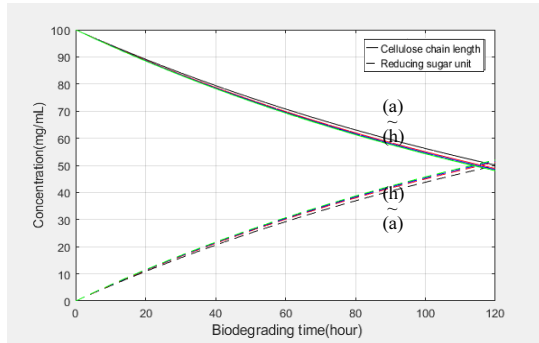
온도가 최고온인 60°C(Fig. 5)로 올라가게 되면 1

mg/l, 5 mg/l, 10 mg/l, 15 mg/l, 30 mg/l, 50 mg/l의 효소를 첨가하였을 때 각각 약 17%, 54%, 68%, 85%, 99%, 100% 감소하는 결과가 나타났다. 60°C에서는 상온인 25°C일 때보다 전체적으로 분해율이 15%가량 높아지지만, 온도 차이에 비해 분해율이 크게 높아지지 않았다.

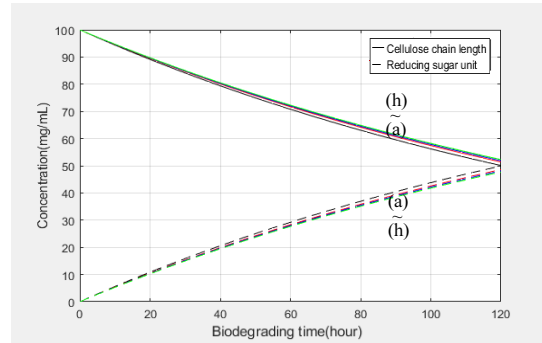
### 3.2. 사슬 길이 변화

Fig. 6~9는 각 지정 온도에서 길이가 10<sup>5</sup>인 셀룰로오스 사슬이 시간의 흐름에 따라 분해되는 결과를 나타내었다. 지정 온도는 셀룰로오스가 최소한으로 생분해될 수 있는 온도인 5°C부터 상온인 25°C, 고온인 40°C, 생분해가 가능한 최고 온도인 60°C로 설정하였다.

여기서 효소 첨가량은 모델의 운용 결과에서 중간 값을



**Fig. 10.** Change in the ratio of  $\alpha$  and  $\beta$  when alpha is endoglucanase and beta is  $\beta$ -glucosidase. (a)  $\alpha:\beta=1:1$  (b)  $\alpha:\beta=1:5$  (c)  $\alpha:\beta=1:10$  (d)  $\alpha:\beta=1:10^2$  (e)  $\alpha:\beta=1:10^3$  (f)  $\alpha:\beta=1:10^4$  (g)  $\alpha:\beta=1:10^5$  (h)  $\alpha:\beta=1:10^6$ .



**Fig. 11.** Change in the ratio of  $\alpha$  and  $\beta$  when alpha is endoglucanase and beta is  $\beta$ -glucosidase. (a)  $\alpha:\beta=1:1$  (b)  $\alpha:\beta=5:1$  (c)  $\alpha:\beta=10:1$  (d)  $\alpha:\beta=10^2:1$  (e)  $\alpha:\beta=10^3:1$  (f)  $\alpha:\beta=10^4:1$  (g)  $\alpha:\beta=10^5:1$  (h)  $\alpha:\beta=10^6:1$ .

나타내는 10 mg/l로 설정하였으며, 효소의 비율과 반응 속도상수에 대한 변수들은 3.1. 효소 투입 변화에서와 같이 적용시켰다.

온도가 5°C인 저온에서의 분해 반응을 Fig. 6과 같은 결과로 나타낼 수 있었다. 저온에서는 사슬의 분해도가 저조하고, 120시간이 지난 후 전체의 약 25%만이 사슬이 1개인 글루코스 분자(환원당)로 분해됨을 알 수 있다. 분해 반응이 저조하게 나타나는 근거는 표준온도 이하의 온도에서 효소의 활성도가 낮기 때문으로 추측할 수 있다.

Fig. 7에는 온도가 25°C인 상온에서의 분해반응을 나타내었는데, 저온에서의 결과와 비교하였을 때 전체적인 분해율이 증가한 결과를 확인할 수 있다. 120시간 후 상온에서의 환원당 생성율은 전체의 약 50%로, 저온일 때 사슬 분해율보다 2배가량 증가한 결과가 나타났다. 120시간 후 고온인 40°C(Fig. 8)에서는 전체의 약 62%의 환원당이 생성되었고, 최고온인 60°C(Fig. 9)에서는 약 70%가 생성되었다. 온도가 저온에서 상온으로 상승하였을 때의 결과와 비교하면 고온과 최고온에서 환원당 생성율의 증가가 미비함을 알 수 있다.

길이가  $10^5$ 인 셀룰로오스 사슬을 각 온도에서 생분해시킨 결과를 확인한 결과, 온도가 올라갈수록 분해속도가 증가하고 길이가 짧은 사슬의 생성율이 높아지므로 활성도가 증가함을 알 수 있었다.

### 3.3. 반응속도상수 비율 변화

상온인 25°C에서 사슬의 길이가  $10^5$ 일 때 endoglucanase와  $\beta$ -glucosidase의 비율을 변화시켜 결과를 확인할 수 있었다. 효소의 반응속도상수는 각 이전 변화 결과에서와 같이 지정된 값을 적용시켰으며, endoglucanase는  $\alpha$ 로 표현하고  $\beta$ -glucosidase를  $\beta$ 로 표현하여 각 효소들의 비율을 변화시켰다.  $\alpha$ 와  $\beta$ 의 비율을 1:1부터 1:10<sup>6</sup>까지 변화시킨 결과는 Fig. 10과 같은 결과로 나타낼 수 있었고  $\alpha$ 와  $\beta$ 의 비율을 1:1부터 10<sup>6</sup>:1까지 변화시킨 결과는 Fig. 11와 같이 나타낼 수 있었다. 여기서 효소 첨가량은 각 비율마다 총 10 mg/l가 될 수 있도록 설정하였다.

$\alpha$ 와  $\beta$ 의 비율을 1:1부터 1:10<sup>6</sup>까지 변화시켰을 때의 평균 분해율은 약 52%이고 1:1부터 10<sup>6</sup>:1까지 변화시켰을 때의 분해율은 약 50%로 두 그래프에서 2% 가량의 미미한 차이가 나타남을 확인할 수 있었다. 이는  $\alpha$ 와  $\beta$ 의 반응속도상수의 크기가 극소한 차이를 나타내므로 더 큰 값을 가진  $\beta$ 의 비율을 증가시켰을 때 셀룰로오스의 분해율이 미세하게 증가하는 것임을 알 수 있다.

결론적으로 반응속도상수 비율을 변화시켰을 때 미세한 차이는 있으나 두 속도상수의 차이가 크지 않아  $\alpha$ 와  $\beta$ 의 비율 변화는 반응 속도에 큰 영향을 미치지 않음을 확인할 수 있었다.

### 3.4. 실험 결과

모델에서 효소 첨가량을 변화시켰을 때의 결과와

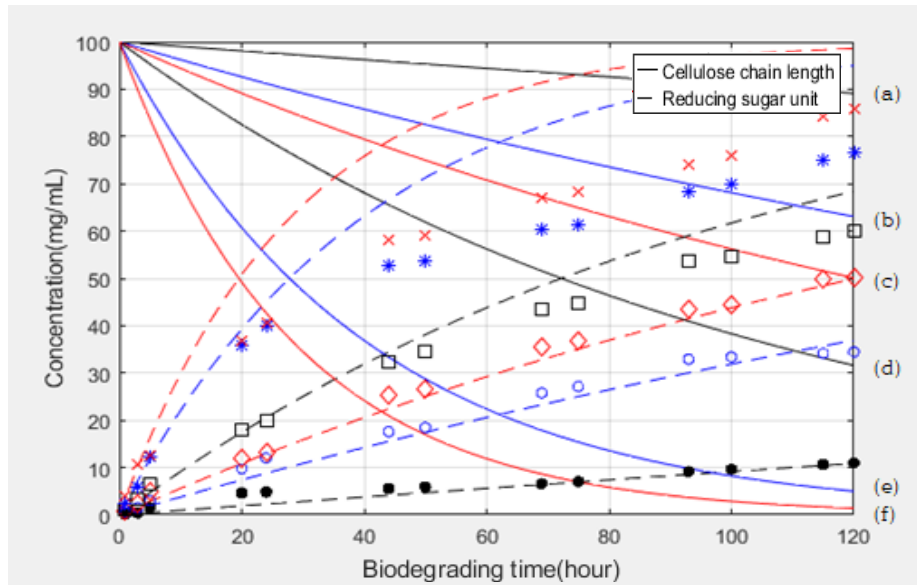


Fig. 12. Cellulose concentration decrease when the amount of enzyme is increased at 25°C (a) 1 mg/l (b) 5 mg/l (c) 10 mg/l (d) 15 mg/l (e) 30 mg/l (f) 50 mg/l. and Weight of reducing sugar increases as the amount of enzyme added increases. ● : 1 mg/l, ○ : 5 mg/l, ◇ : 10 mg/l, □ : 15 mg/l, \* : 30 mg/l, × : 50 mg/l.

비교하기 위해 셀룰로오스를 생분해시키는 실험을 진행하였다. 3.1 효소 투입 변화에서 확인한 바 25°C 이상으로 올라갈 경우 반응 속도는 빨라지지만 유의미한 변화가 나타나지 않았으므로 실험에서는 상온인 25°C를 적용하였다. 셀룰로오스의 농도는 100 mg/ml에서 생분해될 수 있도록 계산하였고 endoglucanase와  $\beta$ -glucosidase의 비율은 1:1로 맞추어 효소 첨가량이 각각 1 mg/l, 5 mg/l, 10 mg/l, 15 mg/l, 30 mg/l, 50 mg/l가 될 수 있도록 하였다. 표준원액의 표준검정곡선을 활용하여 측정된 흡광도를 계산하여 환원당의 무게를 산출하였으며, 실험 데이터와 모델 운용 결과를 용이하게 비교할 수 있도록 실험의 온도, 효소 투입 등을 고려한 모델 결과인 Fig. 3에 실험 데이터를 함께 표현하였다.

실험을 통해 얻은 결과 값에서는 1 mg/l의 효소를 첨가하였을 때 약 11%의 환원당이 생성되었으며, 5 mg/l을 첨가한 경우 약 35%의 환원당이 생성되었다. 10 mg/l을 첨가한 경우 약 51%의 환원당이 생성되어 모델을 통해 시뮬레이션을 진행한 결과와 유사한 결과 값을 나타내었다.

그러나, 15 mg/l이상의 효소를 첨가하였을 때는 모델

의 운용 결과에 비해 다소 낮은 환원당이 생성되는 결과가 나타났다. 15 mg/l의 효소를 첨가하였을 때는 약 60%의 환원당이 생성되어 모델 운용 결과에 비해 11.76% 감소한 값이 나타났으며, 30 mg/l의 효소를 첨가하면 약 76%의 환원당이 생성되어 모델 운용 결과에 비해 19.15% 가량 감소한 결과 값을 나타내었다. 50 mg/l의 효소를 첨가하면 약 85%의 환원당이 생성되어 14.14% 가량이 감소하는 결과가 나타나 환원당 정량 실험을 통해 모델의 운용 결과와 유사하며, 환원당이 생성되는 데 가장 효율적인 효소 첨가량은 10 mg/l임을 알 수 있었다.

#### 4. 결론

Endoglucanase와  $\beta$ -glucosidase 효소에 의해 셀룰로오스가 생분해되는 모델을 활용하여 각 인자들의 변화에 따른 모델 운용 결과를 해석하였다. 길이가  $10^5$ 인 셀룰로오스의 농도가 효소의 반응속도와 반응 확률, 온도 등에 따라 영향을 받으며 셀룰로오스의 농도가 감소함에 따라 생성되는 환원당의 농도가 증가하는 결과를 통해 다음과



같은 결론을 얻을 수 있었다.

1) 효소 투입량 변화에 따른 결과를 확인하기 위해 저온인 5°C부터 상온인 25°C, 고온인 40°C, 최고온 60°C까지 설정하였을 때 5°C와 25°C의 변화량은 2배 가량 증가하였으나 25°C와 40°C, 60°C에서의 변화 폭이 크지 않았다.

2) 길이가  $10^5$ 인 셀룰로오스 사슬을 기준으로 하였을 때 모델의 온도가 올라갈수록 분해속도가 증가하고 길이가 짧은 사슬의 생성율이 높아짐을 알 수 있었다.

3)  $\alpha$ 와  $\beta$ 의 비율을 변화시켰을 때 2% 가량의 미비한 차이가 나타남을 확인할 수 있었으나  $\alpha$ 와  $\beta$ 의 반응속도 상수의 크기가 극소한 차이를 나타내므로 반응 속도에는 큰 영향을 미치지 않았다.

4) 효소 첨가량을 각각 1 mg/l, 5 mg/l, 10 mg/l, 15 mg/l, 30 mg/l, 50 mg/l로 증가시켰을 때 1~10 mg/l을 첨가한 경우는 모델 운용 결과와 유사하게 나타났으나, 15 mg/l이상의 효소를 첨가하였을 때는 모델의 운용 결과에 비해 다소 낮은 환원당이 생성되는 결과가 나타났다. 여기서 잠정적으로 식 (1)과 같이 제시한 반응식의 모델의 운용 결과와도 유사하며, 동시에 최대 환원당이 생성되는 데 가장 효율적인 효소 첨가량은 10 mg/l임을 알 수 있었다.

## REFERENCES

- Akyol, C., Aydin, S., Bozan, M., Ecem, O. B., Ince, B., Ince, O., 2018, Bioaugmentation with clostridium thermocellum to enhance the anaerobic biodegradation of lignocellulosic agricultural residues, *Bioresour Technol*, 249, 620-625.
- Apaydin, S., Bahcegul, E., Bakir, U., Haykir, N. I., Tatli, E., 2011, Selecting the right blood glucose monitor for the determination of glucose during the enzymatic hydrolysis of corncob pretreated with different methods, *Bioresour Technol*, 102, 9646-9652.
- Brown, G. B., Hildreth, A. C., 1942, Modification of Lane-Eynon method for sugar determination, *Journal of the Association of Official Agricultural Chemists*, 25, 775-778.
- Dekker, K. D., 1950, The Luff-Schoorl method for determination of reducing sugar in juices, molasses and sugar, *South African Sugar Journal*, 34, 157-171.
- Gong, Z., Hu, Q., Huang, H., Yan, J., Yang, Z., Yin, X., Zeng, R., 2016, Cloning a novel endo-1,4- $\beta$ -d-glucanase gene from *Trichoderma virens* and heterologous expression in *E. coli*, *AMB Express*, 6, 108.
- Hassan, M., Nada, A. M. A., 2000, Thermal behavior of cellulose and some cellulose derivatives, *Polymer Degradation and Stability*, 67, 111-115.
- Jang, Y. H., Jeong, Y. K., Kim, D. W., Lee, J. K., Yoon, Y. H., 1995, Effect of adsorption of endoglucanase on the degradation of microcrystalline cellulose, *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 16, 720-725.
- Johansson, G., Ståhlberg, J., Pettersson, G., 1993, *Trichoderma reesei* has no true exo-cellulase: all intact and truncated cellulases produce new reducing end groups on cellulose, *BBA Gen Subj.*, 1157, 107-113.
- Kang, B. C., Lee, J. B., 2013, Hydrolysis of cellulose by immobilized cellulase in a packed bed reactor, *Journal of Life Science*, 23, 1365-1370.
- Kim, B., Kristian, B. R. M. K., Malene, B. K., Mark, W., Peter, W., Trine, H. S., 2020, Activity of fungal  $\beta$ -glucosidases on cellulose, *Biotechnology for Biofuels*, 13.
- Kim, M. J., Rhee, H. S., 1990, Studies on the changes of taste compounds during soy paste fermentation, *Korean journal of food and cookery science*, 6, 1-8.
- Miller, G. L., 1959, Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar, *ACS Publications*, 31, 426-428.
- Seoane, G., Moresco, H., Sansón, P., 2008, Simple potentiometric determination of reducing sugars, *J. Chem. Educ.*, 85, 1091-1093.

- 
- Graduate student. Sun-Joo Cho  
Department of Environmental Engineering, Soonchunhyang University  
tjsw978@naver.com
  - Graduate student. Tae-Wook Kim  
Department of Environmental Engineering, Soonchunhyang University  
taewook1213@naver.com
  - Professor. Dae-Chul Cho  
Department of Environmental Engineering, Soonchunhyang University  
daechul@sch.ac.kr