

# 섬유소의 糖化工程 및 알콜醱酵

申錫奉 · 吳平濟  
(建國大工大教授)

## I. 緒言

近年, biomass (光合成作用에 의한 炭水化合物 또는 利用되지 않고 있는 動·植物性資源)로부터 有用한 物質이나 對替에너지를 生産하려는 試圖가 크게 注目을 받고 있다. 地球上에서 每年 막대한 양이 生産되고 있는 cellulose (섬유소) 資源은 代表的인 biomass로서, 이로부터 有用한 物質(食糧, 飼料, SCP의 原料, 醱酵原料, 에타놀등)을 얻기 위해서는 먼저 cellulose를 그 構成糖인 glucose로 分解하는 糖化工程의 工業化가 重要한 과제로 되어 있다.

역사적으로는 오래전부터 황산이나 염산 등을 使用하는 酸糖化法이 研究, 開發되어 왔으며, 今世紀初 木材chip을 原料로 하여 미국이

나 독일에서 工業化되었다. 그러나, 耐酸性의 容器가 必要하다는 점, cellulose의 結晶構造가 酸에 對해 抵抗성을 갖기 때문에 加水分解時에 高濃度の 酸 또는 苛박한 酸·高温 條件이 必要하다는 點, 또는 生成된 糖이 hydroxymethylfurfural이나 levulinic acid, formic acid로 2次分解를 일으키는 問題 등으로 인해, glucose의 取率이 低下되므로 經濟的인 채산이 맞지 않아 現在는 몇나라(소련등)를 제외하고는 대부분 이 方法을 실시하지 않고 있다.<sup>1,2</sup>

한편 cellulose의 分解微生物에 關한 研究가 進行되면서 그 應用研究도 發展되어 왔다. 酵素(cellulase: 基質特異성이 다른 여러 가지 成分을 총칭)에 의한 cellulose의 分解는 特異

Table 1. A comparison of some features of acid hydrolysis and enzymatic hydrolysis of cellulosic materials<sup>2)</sup>

	Acid hydrolysis	Enzymatic hydrolysis
Pretreatment	may be necessary	necessary
Rate of hydrolysis	fast (minutes)	slow (hours)
Temperature	high (e. g. 200°C)	low (e. g. 45°C)
Pressure	overpressure	atmospheric pressure
Yield	varies depending on material and process details	varies depending on material and process details
Formation of interfering by-products	probably formed	not likely
Industrial processes in use	yes (in Soviet Union)	no (pilot plant only)
Economical feasibility	?	?

的이고, 보통의 压力 温度條件下에서 反應이 進行되며, 生成糖의 2次分解도 일어나지 않는다는 利點이 있다. 酵素에 의한 cellulose糖化法의 단점으로는 cellulose의 分解率이 낮고 反應速度가 매우 느리다는 것이 一般적으로 指適되고 있다. 표 1에 cellulose 性物質의 酸糖化와 酵素糖化에 關한 比較를 要約하였다.<sup>2</sup> 그러나, cellulose의 높은 結晶構造를 쉽게 變化시키거나, 또는 cellulose의 分解能力이 높은 cellulase의 開發에 關한 研究가 더욱 發展하여, cellulose를 전분과 같이 工業的인 規模로 glucose로 轉換할 수 있게 된다면, cellulose性物質은 우리에게 매우 重要하고 또 豊

酵에 關해, cellulose의 特性, cellulase의 生産菌株와 酵素作用機構, cellulose의 前處理와 糖化工程 및 cellulose性物質의 알콜醱酵 등을 中心으로 그 研究動向과 問題點에 對해 記述한다.

## II. Cellulose와 Cellulase

### 1. Cellulose의 特性

cellulose는 모든 植物體에 있어서의 主成分으로 목재조직의 약1/3, 면섬유(솜)에서는 90%이상이 存在하며, 光合成 作用에 의해서 계속 生成되고 있다. 또, 막대한 量의 고형폐기물(urban garbage, wood remnants, 농산폐기물)에도 cellulose 成分이 다량 포함되어 있다. 植物體內에는 hemicellulose 및 lignin 도 상당량이 포함되어 있으나, 여기서는 cellulose에 對해서만 記述한다.

cellulose는 D-glucose가  $\beta$ -1,4-glucoside 結合으로 연결된 鎖狀高分子이다. (Fig. 2) 天然 cellulose의 構造는 10000個 이상의  $\beta$ -anhydroglucose가 長鎖를 形成하고 있으며 이는 分子量이 약 150萬 정도임을 나타낸다. 세포벽 中의 cellulose는 microfibril을 形成하며, 두께 10~30nm 정도이고, 길이는 數 $\mu$ m에 달하는 것이 있다. X線回折이나 negative 染色法에 의한 전자 현미경 관찰에서 鎖狀分子(chain molecule)가 平行으로 配列한 結晶性部分은 두께 3~4nm의 elementary fibril이 되고, 이것이 모여서 microfibril을 構成한다고 推定되어 있다. 自然狀態의 cellulose는 結晶度가 높고 遊離狀態의 OH 基가 거의 없으며, 이는 分子狀의 cellulose chain이 水素結合으로 結晶을 이루고 있음을 나타내며, 그 길이

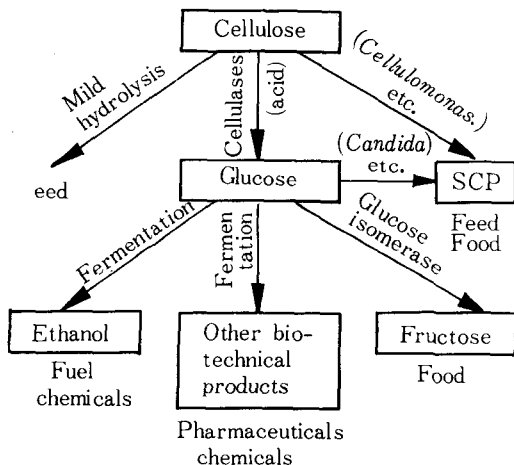


Fig. 1. A simplified scheme of some processes and products based on hydrolysis of cellulose.

富한 資源으로 등장하게 될 것이다. Fig. 1에 cellulose의 糖化에 따른 生産物이나 工程을 간략하게 나타냈다.

여기서는 cellulose의 糖化工程 및 알콜 醱

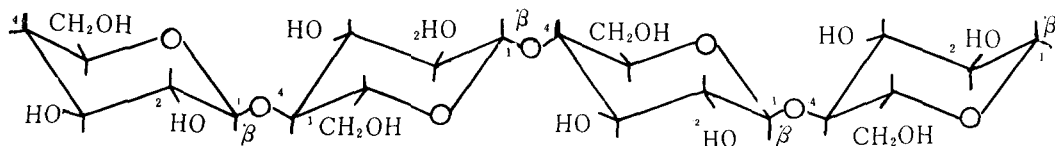


Fig. 2. Conformational formula (chair form) of cellulose (poly- $\beta$ -1, 4-D glucosan).

를 따라 結晶·非結晶部分이 反復되고 있다. cellulose分子의 生物分解可能性에 대한 현재까지의 知見은 天然 cellulose에서의 이러한 結晶·非結晶領域의 分布와 配列에 關한 것들이 중심이 되어 있다.

## 2. Cellulase 生産菌株

Cellulose의 酵素的分解 process의 實用化를 위해서는 活性이 높은 cellulase를 利用하는 것이 基本이다. 많은 菌類와 細菌이 cellulose를 分解하지만 增殖에 따른 生産物은 微生物細胞와 CO<sub>2</sub>나 메탄과 같은 代謝産物이다. 生體外에서 不溶性 cellulose를 水溶性糖으로 分解할 수 있는 活性이 높은 cellulase를 生産하는 微生物은 아주 적은편이다. 예를들어 菌類(fungi)로는, *Trichoderma reesei* (*T. viride*), *T. Koningii*, *T. lignorum*, *Sporotrichum pulverulentum* (*Chrysosporum lignorum*), *Penicillium funiculosum*, *P. iriensis*, *Aspergillus wentii*, *Polyporus adustus*, *Fusarium solanii*, *F. lini*, *Sclerotium rolsii*, *Eupenillium javanicum*, *Schizophyllum commune* 등이 있고, 細菌類(bacteria)로는, *Clostridium thermocellum*, *Thermomonospora sp.*, *Cellulomonas sp.* 및 *Streptomyces flavogriseus* 등이 알려져 있다.<sup>(3)</sup> 약간의 微生物만이 不溶性 cellulose로부터 活潑한 增殖을 하면서도 극히 적은량의 cellulase를 生産하지만, 대부분의 微生物은 carboxy methyl

cellulose(CMC)와 같은 水溶性의 cellulose 誘導體만을 分解하는 cellulase를 生産한다.<sup>(4)</sup> 이러한 까닭은 cellulase가 酵素 또는 酵素비슷한 因子(enzyme like factors)의 複合體라는 것과 菌體가 增殖한 後의 培養液에 cellulase複合體의 모든成分이 存在한다고는 볼수 없기 때문이다. cellulose性物質의 實際的인 糖化工程에서는 cellulase의 모든成分이 適當하게 포함된 菌體外酵素가 要求된다. cellulose를 빨리 分解하거나 急速한 增殖을 하면서도, 단지 水溶性의 cellulose誘導體를 分解하는 酵素만을 生産하는 微生物을 cellulase의 生産菌株로 선정하기에는 不適當하다.

Ascomycete인 *Chaetomium thermophile* var. *dissitum*, *Humicola sp.* 및 *Thermomonospora sp.*와 같은 好熱性 微生物도 天然 cellulose를 分解할 수 있는 cellulase 酵素群을 生産한다.<sup>(3)</sup> 好熱性 微生物은 耐熱性 cellulase源으로 보이지만, 이들이 生産하는 cellulase가 中溫性 微生物의 cellulase보다 반드시 熱安定性이 높다고만은 할수 없다.<sup>(10)</sup>

한편, 上述한 cellulase生産菌株로부터 高分解性의 cellulase를 얻기 위해, 培養條件의 改善<sup>(6-9)</sup>이나 突然變異에 의한 菌株改良에 關한 研究가 계속 추진되어 왔다. 여기서는 天然 cellulose를 分解하는 強力한 cellulase 生産菌株로 알려진 *Trichoderma reesei*의 變異株에 대한 研究를 소개한다. 美陸軍의 Natick

Table 2. Some important cellulase producing organisms and increase in their yields through mutation

Organism	Filter paper activity (units/ml)	Cellobiohydrolase (units/ml × 10 <sup>-3</sup> )	Endo-glucanase (units/ml)	Cellobiase (units/ml)	Reference
<i>Pestalotiopsis westerdijkii</i> QM38	0.15	2.93	50	N. a.	10
<i>Penicillium iriensis</i> QM9624	0.77	11.58	81	N. a.	10
<i>Trichoderma reesei</i> QM6a	0.55	18.91	59	0.3	10, 11
<i>T. reesei</i> QM9123	1.68	29.26	96	N. a.	10
<i>Sclerotium rolsii</i> CMC 142	1.4	N. a.	200	11	12
<i>S. rolsii</i> UV-8	2.0	N. a.	190	18	13
<i>T. reesei</i> QM 9414	9.5	57.0	110	0.5	12, 14
<i>T. reesei</i> MCG-77	10.5	60.8	100	0.9	11, 14
<i>T. reesei</i> NG-14	14.6	58.9	135	1.35	11, 14
<i>T. reesei</i> C-30	14.0	N. a.	150	0.3	14

N. a., not available

研究所를 중심으로 *T. reesei* QM6a로 부터 突然變異에 의해 cellulase 生産성이 2~4 倍 높은 QM9123(1969년)과 QM9414(1971년)가 얻어졌다. 最近에 이르러 代謝產物抑制條件(catabolite repression)下에서 優秀한 生産性を 나타내는 變異株 NG14(1977년) 및 MCG 77(1977년)이 發表되었다. NG14의 filter paper活性은 培養液의 단백질량을 기준으로 QM 9414의 2배의 活性을 나타내고, MCG77은 生産성이 다른 變異株와 비슷하지만, 水溶性의 基質에서 急速히 增殖하면서도 cellulase 生産성이 좋았다. NG14로부터 얻어진 C30(1979년)은 5% glucose의 存在하에서도 代謝產物抑制을 받지 않는 것으로 報告되었다.<sup>19)</sup> 最近까지 發表된 各種 微生物의 變異株에 의한 cellulase의 活性을 比較한 것이 표 2이다. 표에서 알수 있는 것처럼 지금까지의 突然變異에 의한 研究結果에서는 cellulase의 活性이 겨우 數倍정도밖에 높지 않다고 하는 點이다. 이처럼 變異株에 의한 cellulase活性이 다른 酵素와 比較해서 낮은 것은 cellulase가 複合酵素라는 點과 微生物에 의한 cellulase의 生成機構나 cellulase活性의 發現機構가 아직도 完全히 解明되지 못한데 큰 原因이 있다고 생각된다. 필자도 *T. reesei*에서의 cellulase 生成機構에 관한 研究<sup>8)</sup>를 進行하였지만, 이러한 研究에 보다 積極的인 참여가 要求된다고 보겠다.

### 3. Cellulase의 作用機構

結晶性 cellulose의 分解는 여러가지 酵素作用이 要求되는 複雜한 反應이다. 이러한 作用機構에 대해서는 1950年 Reese<sup>15)</sup>등에 의해 天然 cellulose가 水溶性糖으로 轉換되는데는 C<sub>1</sub> 및 C<sub>x</sub>酵素에 의해 2段階로 進行된다는 假說이 처음 發表된 이후, 酵素의 分離·精製技術의 發展과 함께 많은 研究가 C<sub>1</sub>-C<sub>x</sub> 機構의 解明을 中心으로 發表되어 왔다. 그러나, 이들의 研究結果는, cellulose chain에 random하게 作用하는 C<sub>x</sub>(endo-glucanase)가 chain을 切斷하면, 계속해서 그 chain의 末端에 C<sub>1</sub>

(exo-glucanase)이 作用한다는 Reese의 처음 假說과 다른 理論을 強力하게 支持하고 있다.

cellulase는 그 構成酵素의 多樣性으로 인해 各酵素間의 相助作用(synergistic action)이 많은 研究者에 의해 強調되었으며<sup>16, 18)</sup> 이를 基本으로하여 Petterson<sup>19)</sup>에 의해 提案된 cellulose의 酵素的 分解機構는 다음과 같다.

(가) cellulose fibre중의 結晶性이 적은 部分이 endo-glucanase에 의해 分解되고 free chain 末端이 生成된다.

(나) 生成된 chain 末端은, exo-glucanase에 의해 cellobiose 單位로 加水分解된다.

(다) cellobiose는  $\beta$ -glucosidase의 作用에

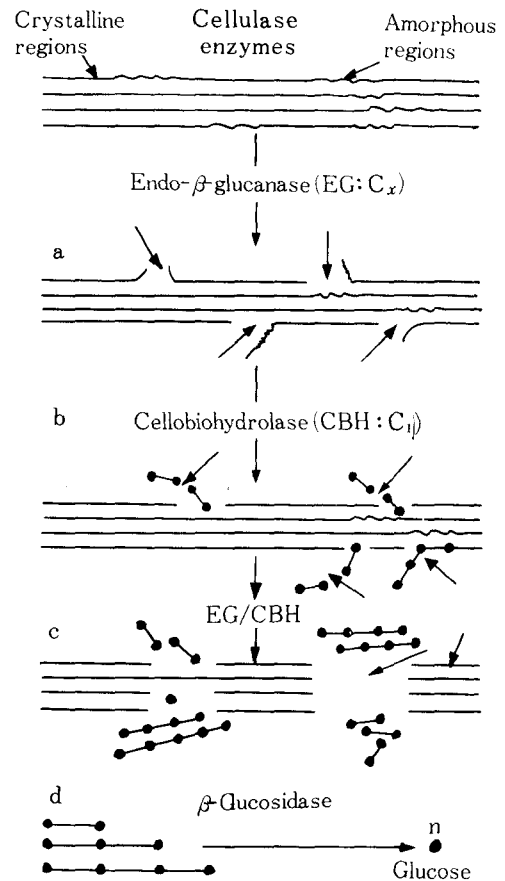


Fig. 3 Schematic representation of synergistic action of enzymes in cellulolysis<sup>17,20)</sup>

의해 glucose로 分解된다.

Fig. 3은 ellulose의 加水分解시의 酵素間의 相助作用을 나타낸 것으로, endo-glucanase가 cellulose chain에 random하게 作用하여 分離된 chain의 末端에 exo-glucanase가 作用하여 cellobiose<sup>(16)</sup>나 glucose<sup>(20)</sup>를 生成하며, endo- 및 exo-glucanase가 強力한 相助作用을 하는 것을 보여준다. 이 假說은 현재 상당한 支持를 받고 있는 것으로 알려져 있다.

### III. Cellulose의 糖化工程

#### 1. Cellulose의 前處理

天然 cellulose는 一般的으로 結晶性이 높고 lignin 등이 포함되어 있으므로, cellulase에 의한 加水分解에 대해 抵抗性이 매우 크다. 따라서 加水分解工程의 實用化를 위해서는 酵素使用에 앞서 物理的 또는 化學的인 方法에 의해 cellulose를 酵素와 反應하기 쉬운 構造가 되도록 處理해줄 必要가 있다.

物理的 前處理法은 ball-milling에 의한 기계적 粉碎나 전자선 또는  $\gamma$ 線照射에 의한 微粉末化로 cellulose의 非結晶性和 反應表面積을 增大시켜, 酵素的 分解速度와 分解率을 增加시키는 方法이다.<sup>(6, 21, 22)</sup> 物理的 前處理法의 長점으로는, 粉碎된 cellulose가 팽윤성이 없으므로 高濃度基質에서 酵素反應이 可能하며, 30

%이상의 糖液을 얻었다는 報告가 있다.<sup>(23)</sup>

ball-milling이 좋은 처리법이지만 一般적으로 비용이 많이 소요된다.<sup>(24)</sup>

化學的 前處理法은  $H_3PO_4$ ,  $H_2SO_4$ ,  $ZnCl_2$ , Cadoxen 및 NaOH등의 試藥을 利用하여 cellulose의 結晶構造를 軟化시키거나 lignin을 除去하는 方法이다.<sup>(25)</sup> 文獻에 나타난 몇가지의 alkali處理法을 표 3에 要約하였다.<sup>(26)</sup> NaOH는 cellulose fibers를 膨潤시키고 重合度를 低下시킨다. 0.1~0.5%의 NaOH에 의한 短時間處理는 uronic acids의 esterification, acetates의 saponification을 일으키며, 이에 따라 cellulose構造가 膨潤 또는 軟化된다. 處理時間이 길면, lignin과 hemicellulose가 어느정도 溶解하므로 乾量이 減少된다. 예를들어, 木材를 1% NaOH로 24°C에서 6시간 處理하면 9%, 4% NaOH, 60°C, 3시간 後에는 17%가 각각 溶解된다. 한편 알카리용액에 의한 cellulose의 膨潤은 cellulose의 酵素的 加水分解를 增進시키지만, 4~5%의 懸液은 펌프수송 또는 混을 곤란하게하며, cellulose成分이 損失된다는 것도 문제점이다.

현재까지 알려져 있는 前處理中에서 效果的인 方法은 알카리處理와 ball-milling의 組合이지만, 역시 cost 문제의 解決이 남아있다고 보겠다.

Table 3. Alkali pretreatment methods<sup>26</sup>

Material	Dry matter g/ml	NaOH %	Temperature °C	Time min
Aspen, cotton	0.05	1	30	60
Newsprint	0.02	2	70	90
Bagasse		2	72	60
Cotton, spruce, beech, oak	0.05-0.1	0.5-17.5	20	30
Rice straw		2-4	160	10-60
Bagasse, rice straw	0.14	1	100	180
Bagasse	0.04	7	80	>180
Newsprint, rice straw	0.03	1	22	960
Bagasse		0.4	120	15
Barley straw	0.06	40	(high pressure)	

## 2. 糖化工程

Cellulose性物質의 糖化工程에 影響을 미치는 因子로는, 基質의 種類 및 前處理, 使用하는 酵素의 特性, 反應溫度, 反應時間, pH, 基質濃度, 酵素의 再使用 및 反應器의 形式 등이 있다. 이러한 因子들은 대부분 서로 연관되어 있어, 全體의 糖化工程을 複雜하게 하며, process의 設計에는 많은 制約이 따르게 된다. 각각의 因子들이 cellulose의 酵素的 加水分解에 미치는 影響에 대해서는 지금까지 많은 研究結果가 報告되어 있으므로, 詳述을 피하고, cellulose의 糖化工程을 pilot plant規模로 實施한 Wilke 등<sup>(27,28)</sup>의 實驗結果를 中心으로 살펴본다.

料인 新聞紙는 ball-mill로서 20mesh以下로 粉碎되어 885T/day가 糖化工程에 134T/day가 酵素生産(酵素誘導槽)에 利用된다. 부속된 다른 process에서 生産되는 糖液을 基質로하여 *Trichoderma reesei* QM9414를 增殖(增殖槽)시켜, 酵素誘導槽로 보낸다. 일정한 酵素活性에 達한 培養液을 여과·원심분리하여 酵素溶液은 cellulose의 糖化에 利用하고, 菌體의 일부는 酵素誘導槽에 返送하지만 나머지는 燃料로 利用한다. 糖化槽에서는 供給된 原料 cellulose와 液體의 比를 1대20(W/W)으로 調節하여 45°C, 酵素活性(3.5 Filter paper activity), 체류시간 40時間으로 分解(cellulose의 50%를 糖化시킴)한다. cellulose를 포함한 糖

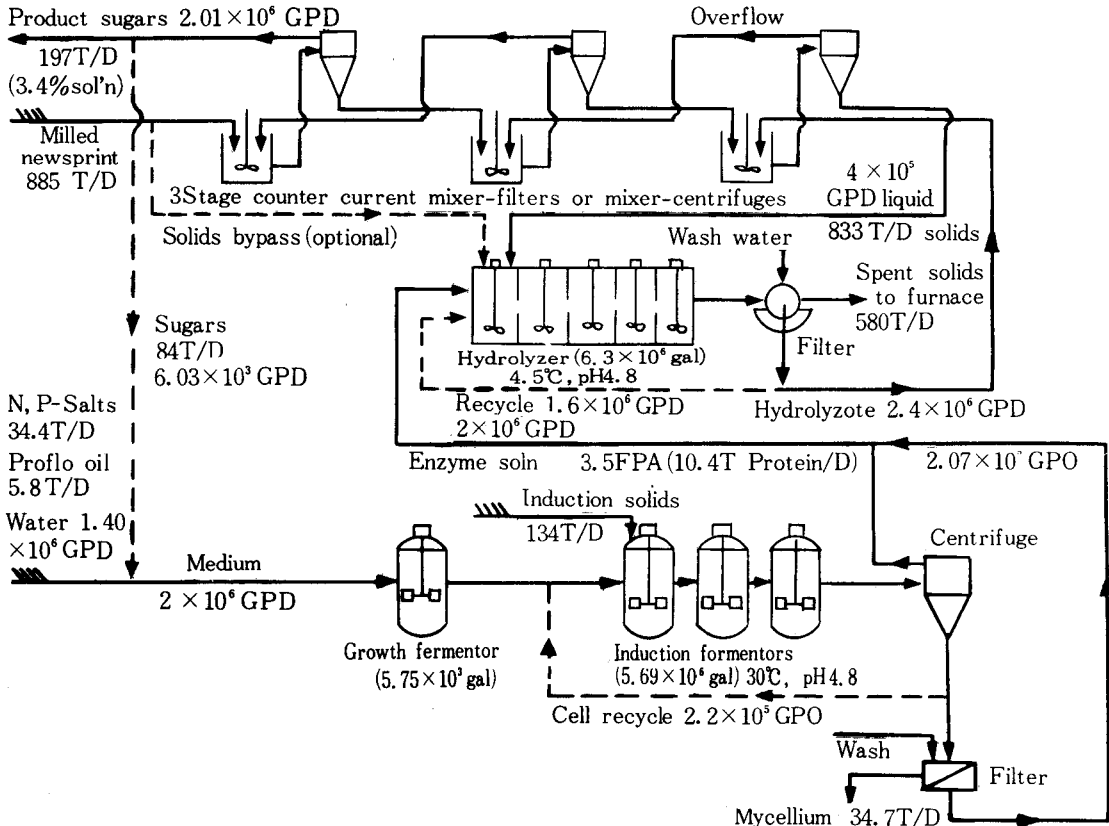


Fig. 4 Flow diagram for a hydrolysis process<sup>(27)</sup>

Fig. 4는 Wilke 등이 實驗한 cellulose 糖化의 工程圖이다. 이 process는 前處理한 cellulose의 糖化, cellulase의 生産 및 SCP와 에타놀의 醱酵生産過程으로 되어 있다. 原

液은 여과하여 殘存 cellulose는 燃料로 利用한다. 한편, 酵素를 包含하는 糖化液은 일부를 糖化槽로 返送하고 나머지는 供給되는 原料 cellulose와 向流接觸하는 도중에 酵素가

cellulose에 흡착되므로, 酵素를 포함하지 않는 3.4% 溶液으로 된다. 이 糖液은 前述한 것처럼 *T. reesei*의 增殖에 利用되거나, 나머지는 濃縮하여 에타놀醱酵에 利用된다. 이 process에서의 問題點은 역시 經濟的인 前處理法의 開發, 副產物(hemicellulose의 糖이나 lignin)의 利用法, 酵素의 經濟的 生産法 및 回收, 再利用의 方法을 解決하는데 있는 것으로 보인다.<sup>28)</sup>

## VI. 알콜발효

에타놀은 cellulose를 酵素로 分解한 後 生成되는 glucose를 효모로 발효시키므로서 生産된다.<sup>29-33)</sup> 또한, 嫌氣的으로 糖化하는 발효 system으로 cellulose性物質로부터 直接 에타놀을 生産할 수 있으며, 이는 같은 反應器에서 cellulase와 효모를 同時에 使用하는 system이다. 이 方法은 一般的인 2段階의 糖化-醱酵法보다 效率이 더 높은 것으로 알려져 있으며, 에타놀은 같은 量의 glucose 또는 cellobiose가 cellulase에 미치는 阻害作用보다

質로서 ball-milling한 옥수수殘渣(9.5g/l)를 사용한 경우, 最大比增殖速度(maximum specific growth rate,  $\mu_m$ )는  $0.3\text{hr}^{-1}$ 이고, 培養後에는 74%의 基質이 消化되어 3.4g/l의 환원당, 0.5g/l의 에타놀(最高 0.8g/l)이 生産되었다. cellulose (Solka Floc SW-40, Brown Co.)를 基質로하여 半回分培養으로 60時間 培養한 경우, 8.2g/l의 還元糖 및 4g/l의 에타놀이 生産되었다. cellulose의 供給量을 變化시킨 實驗에서 消化 cellulose(gr) 당 0.21~0.26g의 에타놀이 生産되며 全生産物(초산包含)의 收率은 40~50%가 되는 것을 報告하고 있다. Fig.5에 이들이 要約한 直接的인 cellulose 발효process에 대한 block diagram을 나타냈다. 여기서  $q_R$ ,  $q_A$  및  $q_E$ 는 각각 還元糧, 초산 및 에타놀이 比生産速度(g product/g cell hr)를, D는 희석율, X는 菌體濃度를 나타낸다. 이러한 cellulose의 直接醱酵法은 2段階의 糖化-醱酵法에 比해 여러 가지 장점이 있지만, 특히 설비비나 운전비가 減少될 수 있다는 점에 큰 매력이라고 하겠다.

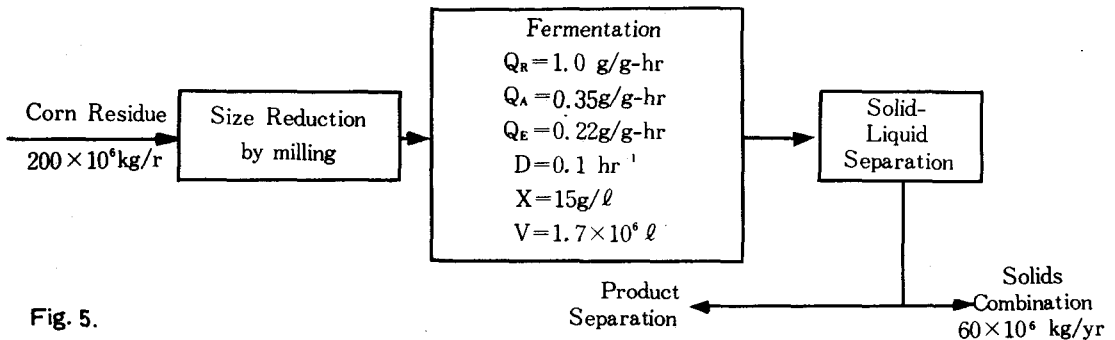


Fig. 5.

Block diagram of a direct cellulose fermentation process scheme for a facility handling  $200 \times 10^6$  kg/corn residue fed/year with a fermentable polysaccharide content of 70% on a dry weight basis.

Ethanol:  $16 \times 10^6$  kg/yr; yield = 0.11 g/g. Acetic acid:  $25 \times 10^6$  kg/yr; yield = 0.18g/g. Reducing sugar:  $71 \times 10^6$  kg/yield = 0.51g/g.

훨씬 적으며 같은 條件下에서의 糖化力도 더 큰 것으로 報告되어 있다.<sup>30)</sup>

Cooney 등<sup>34)</sup>은 好熱性 嫌氣性菌 *Clostridium thermocellum*을 培養하여 cellulose의 分解와 同時에 에타놀을 生産하는 實驗을 하였다. 基

Ghose와 Tyagi<sup>31)</sup>는 bagasse를  $150\mu\text{m}$ 로 粉碎하고 이어서 1(W/V)%의 NaOH로  $120^\circ\text{C}$ , 1時間 脫 lignin한後 *T. reesei* QM9414가 生産하는 cellulase로 糖化한 後, 그液을 使用하여 *Saccharomyces cerevisiae*를 嫌氣的으로 培

養하여 에타놀生産을 檢討하였다. 培養을 1시간 및 連續法으로 하였으며, 1시간法의 경우 23.6g/l의 菌體濃度下에서 6時間 培養하여 9.7 (W/V)%의 에타놀이 生産되었다. 連續法에서는 48.5g/l의 菌體濃度가 되고, 에타놀의 最大生産性은 32.0g/l/hr이었다. 에타놀의 生産性은 에타놀濃度の 增大와 함께 直線的으로 減少되었다. 또, 理論的으로는 glucose의 에타놀에로의 轉換率은 95~97%였다고 報告하고 있다. (표 4)

llulose의 分解에 미치는 阻害作用을 받지않으므로 에타놀收率은 40%까지 높게 된다. 酵素糖化液에 適當한 添加物을 加하면 交換率은 90%에 達한다고 한다.

한편, 微生物에 의한 에타놀生産에는 前述한 cellulose의 糖化工程에서 論議되었던 것처럼 값이 저렴한 炭素源의 檢討와 함께, 에타놀의 生産速度를 높이기 위한 微生物의 檢索 및 培養工學的인 檢討가 必要하다고 보겠다.<sup>36,37</sup> 一般的으로 에타놀의 醱酵生産으로는 酵母에

Table 4. Rapid ethanol production from bagasse hydrolysate using *S. cerevisiae* in batch and continuous cell recycle systems<sup>31)</sup>

Process parameter	Bagasse hydrolysate (BERC process)		
	Batch	Continuous cell recycle	Continuous cell recycle and O <sub>2</sub> sparging
Fermentable sugar conc. (% w/v)	20	15	15
Ethanol conc. (% v/v)	12.7	9.5	9.0
Product yield (% of theoretical)	97	97	95
Fermentation time (h)	5.0	5.5	3.5
Yeast cell conc. (g/l)	27.2	32.0	42.0
Productivity (g/l·h)	12	18.3	32.0

Kansas州에 있는 Gulf Science & Technol. 의 日産 1t의 cellulose를 에타놀로 轉換하는 設備가 1983년까지 日産 2000t의 實用plant로 Scale up되어 建設操業이 計劃되어 있다.<sup>35)</sup> Gulf法은 cellulose를 glucose로 分解하는 것과 同時에 glucose를 에타놀로 轉換하는 것으로, 原料 cellulose는 농업, 공업 및 도시 폐기물을 使用한다. cellulose의 分解는 *T. reesei*의 變異株가 生産하는 cellulase로 하고, glucose의 에타놀에로의 轉換에는 *Saccharomyces cerevisiae*, *S. carlsbergensis* 및 *Candida brassicae*가 利用된다. 前處理한 cellulose slurry에는 7.5~15%의 cellulose가 包含되어 있다. 同一槽에서 糖化 및 醱酵의 2過程이 同時에 進行되므로, 生成되는 glucose가 바로 에타놀로 轉換된다. 따라서 glucose에 의한 ce-

의한 醱酵를 들 수 있지만, 高濃度の 基質 또는 生産物(에타놀)의 축적에 의한 醱酵阻害가 큰 問題點으로 指適되고 있다. 이러한 問題點을 解決하고 醱酵生産性을 높이기 위해, 菌株改良<sup>38)</sup>, 低壓醱酵法<sup>29)</sup>, 高濃度 菌體에 의한 連續醱酵法(에타놀生産性, 대체로 30g/l·hr)<sup>31)</sup><sup>39,40)</sup> 및 固定化酵母利用法(에타놀生性法, 50g/l·hr)<sup>41,42)</sup> 등이 報告되고 있으나, 역시 酵母에 共通되는 에타놀에 의한 醱酵阻害(product inhibition)로 인해, 生産性的 向上은 크게 制約을 받고 있다.

이러한 酵母에 의한 에타놀醱酵에 대해, 最近 *Zymomonas*속의 細菌을 利用한 알콜 醱酵가 提案되어 120g EtOH/l·hr라는 높은 生産性이 報告되었다.<sup>43)</sup> 이 값은 glucose를 炭素源으로한 菌體再循環連續培養에서의 結果이



지만, 酵母대신에 *Zymomonas*를 利用하는 長點을 다음과 같이 指適하고 있다.

(가) 菌體當의 糖消費, 에타놀生成速度가 酵母에 비해 2~3 배 크다.

(나) 炭水化物的 資化代謝가 酵母와 다르기 때문에 収率이 높다.

(다) *Zymomonas*는 嫌氣性에서도 生育하므로 酵母에서처럼 酸素供給이 必要없다.

(라) 에타놀 阻害에 대해 連續培養에서 70~80 g/l, 回分培養에서는 120g/l 의 濃度까지 許用力이 있다.

(매) 酵母에 비해 變異處理가 容易한 때문에 廣範圍한 基質에 대해 資化性を 期待할 수 있다.

(베) 前述한 것처럼 높은 生産性を 갖는다.

이상과 같이 알콜醱酵細菌 *Zymomonas*가 酵母보다 에타놀生産이 높다는 점에서, 菌株改良<sup>(44)</sup>에 關한 研究를 비롯, 전분을 醱酵시키지 못하는 *Zymomonas* 속으로 부터 直接 전분을 醱酵할 수 있도록 遺傳子를 操作하려는 試圖까지 發表되고 있다.<sup>(45)</sup>

## V. 結言

代表的인 biomass인 cellulose性 物質로부터 有用한 物質을 얻기 위해서는, cellulose의 糖化工程의 工業化가 先決되어야 한다는 점이 強調되었다. 理想的인 酵素的糖化工程은 反應이 빠르고 完結하여 酵素의 損失없이 高濃度の glucose를 經濟的으로 얻는 process라고 볼수 있으며, 이러한 研究目標을 向해서 새로운 工程의 開發 및 最適化에 關한 研究에 많은 努力이 要求된다고 하겠다.

한편, 世界各國에서 biomass의 利用에 關한 研究가 현재 活發하게 進行되고 있다는 점에 注目하면서 賦存資源이 빈약한 우리나라의 現實을 直視한다면, 微生物에 의한 biomass利用에 關한 研究야 말로 시급히 참여하고 開發하여야 할 分野라고 볼수 있다. 더욱, cellulose性 物質의 資源化(食糧, 飼料, SCP의 原料, 醱酵原料, 에타놀 등)에 대한 無限한 可

能性を 向해 微生物研究者, 生物工學研究者, 化學工學研究者들에 의한 보다 積極的인 研究活動이 期待된다고 하겠다.

## 참 고 문 헌

1. Saeman, J. F. : Ind. Eng. Chem., 37, 43 (1945).
2. Linko, M. : Kemia-Kemi, 2, 602 (1975).
3. Bisaria, V. S. Ghose, T. K. : Enzyme Microb. Technol., 3, 90 (1981).
4. Mandels, M. Weber, J. : Adv. Chem. Ser., 95, 391 (1969).
6. Mandels, M. Stern berg, D. : J. Ferment. Technol., 54, 267 (1976).
7. Herr, D. Luck, G. Dellweg, H. : Jo Ferment. Technol., 56, 273 (1978).
8. Shin, S. B. Kitagawa, Y. Suga, K. Ichikawa, K. : J. Ferment. Technol. 56, 396 (1978).
9. Montenecourt, B. S. Eveleigh, D. E. : Adv. Chem. Ser., 181, 279 (1979).
10. Mandels, M. : Biotechnol. Bioeng. Symp. No. 5, P. 81 (1975).
11. Ryu, D. Mandels, M. : Enzyme Microb. Technol., 2, 91 (1980).
12. Sadana, J. C. Shewale, J. G. Deshpande, M. V. : Appl. Environ. Microbiol., 38, 730 (1979).
13. Sadana, J. C. Shewale, J. G. Deshpande, M. V. : 2nd Int. Symp. Bioconv. Biochem. Eng., Delhi, India, March (1980).
14. Gallo, B. J. Andreati, R. E. Roche, R. Ryu, D. Mandels, M. : Biotechnol. Bioeng. Symp. No. 8, P. 89 (1978).
15. Reese, E. T. Siu, R. G. H. Levinson, H. S. : J. Bacteriol., 59, 485 (1950).
16. Wood, T. M. : Biotechnol. Bioeng. Symp. No. 5, P. 111 (1975).
17. Wood, T. M. Mccare, S. L. : Carbohydr. Res., 57, 117 (1977).

18. Eriksson, E. K. : Proc. Symp. Enz. Hydrol. Cellulose, Aulanko, Finland, March, P. 263 (1975).
19. Pettersson, L. G. : Proc. Symp. Enz. Hydrol. Cellulose, Aulanko, Finland, March P. 255 (1975).
20. Eriksson, K. E. Pettersson, B. Westermarm, u. : FEBS Lett., 49, 282 (1974).
21. Tassinari, T. Macy, C. : Biotechnol. Bioeng., 19, 1321 (1978).
22. Kumakura, M. Kaetsu, I. : Biotechnol. Bioeng., 20, 1309 (1978)
23. Katz, M. Reese, E. T. : Appl. Microbiol., 16, 419 (1968).
24. Mandels, M. Hontz, L. Nystrom, J. : Biotechnol. Bioeng., 16, 1471 (1974).
25. Ladisch, M. R. Ladisch, C. M. Tsao, G. T. : Science, 201, 743 (1978).
26. M. Linko : Adv. Biochem. Eng., 5, 33 (1977).
27. Wilke, C. R. Yang, R. D. : Proc. Symp. Enz. Hydrol. Cellulose, Aulanko, Finland, March, P. 485 (1975).
28. Wilke, C. R. Cysewski G. R. Yang. R. D. Stocker, u. v. : Biotechnol. Bioeng., 18, 1315 (1976).
29. Cysewski, G. R. Wilke, C. R. : Biotechnol. Bioeng., 19, 1125 (1977).
30. Savarese, J. I. Young, S. D. : Biotechnol. Bioeng., 20, 1291 (1978).
31. Ghose, T. K. Tyagi, R. D. : Biotechnol. Bioeng., 21, 1387 (1979).
32. Ghose, T. k. Bandopadhyay, K. K. : Biotechnol. Bioeng., 22, 1489 (1980).
33. Tyagi, R. D. Ghose, T. K. : Biotechnol. Bioeng., 22, 1907 (1980).
34. Cooney, C. L. Wang. D. L. C. Wang, S. D. Gordon, J. Jiminez, M. : Biotechnol. Bioeng. Symp. No. 8, 103 (1978).
35. Chem. Eng. News, 57, April 16, 38 (1979).
36. 田中三男 : 醸酵工學, 58, 145 (1980).
37. 西澤義矩 : 醸酵工學, 58, 160 (1980).
38. Rose, D. : Process Biochem., 11, 10 (1976).
39. Margaritis, A. Wilke, C. R. : Biotechnol. Bioeng., 20, 709 (1978).
40. Rosen, K. : Process Biochem., 13, 25 (1978).
41. Griffith, W. L. Compare, A. L. : Dev. Ind. Microbiol., 17, 261 (1976).
42. 和田, 加藤, 千畑 : 日本醸酵工學會大會講演要旨集, P. 159 (1978).
43. Rogers, P. L. Lee, K. J. Tribe, D. E. : (Abstr.) 2nd Int. Symp. Bioconversion and Biochem. Eng., Delhi, India, P. 100 (1980).
44. 高田信男 : 醸酵工學, 58, 467 (1980).
45. Skotnicki, M. L. Tribe, D. E. Rogers, P. L. : Appl. Environ. Microbiol., 40, 7 (1980).