

셀룰라아제에 의한 지류 문화재의 분해

†장 영 훈

공주대학교 사범대학 화학교육과

(접수 : 2002. 11. 15., 게재승인 : 2002. 12. 24.)

The Degradation of Paper Cultural Properties by Cellulase

Jang Young Hunt†

Department of Chemistry Education, College of Education, Kongju National University, Kongju 314-701, Korea

(Received : 2002. 11. 15., Accepted : 2002. 12. 24.)

The hydrolysis of old book(Hanji) was performed using endoglucanase I(endo I), and exoglucanase II(exo II) and their mixtures purified from *Trichoderma viride* cellulase. The optimum degradation of old book(Hanji) with endo I, exo II and endo-exo mixture(1:1) were exhibited at pH 4.5, 5.5, 5.0, respectively. Maximum degradations using endo I, exo II and endo-exo mixture(1:1) occurred at 50°C. The yield decreased an increasing the enzyme concentration. Especially, the yield was lowest for treatment with the endo I-exo II mixture(1:1), which may be regarded as being due to a synergistic action of the cellulase components. Physical strength increased with increasing exo II concentration, and decreased with increasing concentration of endoglucanase I. These results indicated that the degradation of old book(Hanji) depends largely upon the action of endoglucanase. Therefore, the most effective method of conserving paper cultural properties is to repress the action of endoglucanase.

Key Words : Cellulase, hydrolysis, paper cultural properties, physical strength, reducing sugar(TRS)

서 론

우리나라 문화재 중에는 여러 종류가 많이 있지만 그 중에도 가구류, 지류, 의류 등의 섬유질 문화재가 상당한 비율을 차지하고 있다. 이러한 섬유질 유물은 목재를 처리 가공하여 제조된 것으로 그 주성분이 섬유소(cellulose)로 구성되어 있다. 이 섬유질 문화재들은 곰팡이나 균류 등 미생물에서 분비되는 셀룰라아제(cellulase)에 의하여 쉽게 훼손되어가고 있는 실정이다. 이러한 손상은 유물의 내부까지 침투하여 서서히 진행되기 때문에 셀룰라아제(cellulase)에 의한 지류, 섬유질 유물의 손상은 매우 치명적일 수 있다.

곰팡이나 균류에서 분비되는 셀룰라아제는 복합효소로서 기질에 따른 가수분해 특성에 따라 3종류의 성분으로 분류한다. 즉 carboxymethylcellulose(CM-cellulose)의 가수분해 능이 우수한 endoglucanase(EG), Avicel의 분해능이 우수한 exoglucanase(CBH), 그리고 β -glucosidase로 구성되어 있다(1). Wood와 McCrae(2)에 의하면 endoglucanase는 셀룰로오스를 무작위(random)로 공격하여 비환원성 말단기를 만들고,

exoglucanase는 섬유소 사슬의 비환원성 말단기를 공격하여 cellobiose를 생성시키며, 최종적으로 β -glucosidase는 cellobiose를 glucose로 분해시킨다. 그리고 endoglucanase와 exoglucanase는 협력작용(synergistic action)에 의해 셀룰로오스를 효과적으로 가수분해시키는 것으로 알려져 있다(3,4).

섬유소의 효소적 가수분해에 대한 메카니즘을 밝히기 위하여 많은 연구가 진행되고 있음에도 불구하고, 아직 명확한 가수분해 메카니즘이 밝혀져 있지 못한 실정이다. 이와 같은 연구의 어려움은 주로 섬유질의 복잡성과 복합효소제로서의 셀룰라아제의 다양성 때문인 것으로 알려져 있다(5). 최근에 우리는 셀룰라아제의 가수분해 메카니즘을 밝히기 위하여 각 효소성분을 분리 정제하여 각 성분별 흡착특성과 가수분해에 대한 많은 연구를 해 왔다(6-8).

본 연구에서는 한지로 된 고서적을 펄프화하여 분리 정제된 셀룰라아제의 각 성분들로 가수분해시켰을 때의 pH, 온도, 환원당 및 재생종이의 물리적 특성을 조사하여 지류문화재의 셀룰라아제로부터의 손상 메카니즘을 규명하고 손상의 방지조건 및 지류 문화재의 보존처리에 대한 정보를 제공하고자 한다.

† Corresponding Author : Department of Chemistry Education, College of Education, Kongju National University, Kongju 314-701, Korea

Tel : +82-41-850-8280, Fax : +82-41-850-8347

E-mail : drjang1112@hanmail.net

재료 및 방법

사용 지류 문화재

지류 문화재 대응으로 시중에서 구입한 한지로 재분된 고



Figure 1. The sample of old book.

서적(조선시대 말기 추정, Figure 1)을 1×1 cm(가로×세로)로 잘라 공시재료로 사용하였다.

효소의 분리 및 활동도 측정

*Trichoderma viride*에서 분리된 셀룰라아제(cellulase)를 사용하였으며, endoglucanase(endo I, II, III 및 IV)와 exoglucanase(exo II)와 같은 주요 셀룰라아제(cellulase)성분들이 Bio-Gel P10, Bio-Gel P100, DEAE-Sephadex A-50, SP-Sephadex C 50 및 Avicel PH 101을 이용한 다양한 chromatography과정을 통하여 분리되었다(6). Endoglucanase로서 가장 전형적인 endo type인 endo I, exoglucanase로서는 exo II를 사용하였으며 분자량은 각각 52,000 Da과 62,000 Da 이었다.

사용된 셀룰라아제의 활성(Activity)은 Table 1과 같다. 즉 Endo I은 CMC와 H₃PO₄-swollen cellulose와 같은 비결정성 cellulose에 높은 activity를 보이는 전형적인 endo type이며, exo II는 Avicel과 같은 결정성 cellulose에 높은 activity를 나타내는 전형적인 exo type임을 알 수 있다.

단백질 정량

효소의 양은 Lowry 방법(9)으로 결정하였으며, 이때 표준 단백질로 bovine serum albumin을 사용하였다.

실험 방법

환원당 정량

고서적 시편을 0.05 M sodium acetate buffer, pH 5.0용액에 넣어 펄프농도가 5% 되도록 조정후 5분간 펄핑한 후 cellulase농도를 0.5 mg/mL로 고정 시켰다. 진탕기 속에서 120 strokes/min로 50℃에서 효소별로 시간에 따라 처리한 후

상등액을 취하여 환원당을 정량하였다. 환원당(TRS)은 DNS 방법(10)으로 glucose를 표준 물질로 하여 측정하였다. 사용된 효소성분은 endo I, exo II 및 endo I-exo II의 혼합효소(endo I : exo II = 1:1, weight ratio)이다.

pH에 따른 가수분해 효과 측정

고서적 시편을 pH를 3~6까지 변화시킨 sodium acetate buffer, sodium phosphate buffer에 넣어 펄프농도가 5% 되도록 조정후 5분간 펄핑한 후 cellulase농도를 0.5 mg/mL로 고정시켜 120 strokes/min로 50℃ 진탕기에서 8시간 반응시킨 후 상등액을 취하여 환원당을 정량하였다.

온도에 따른 가수분해 효과 측정

고서적 시편을 0.05 M sodium acetate buffer, pH 5.0 용액에 넣어 펄프농도가 5% 되도록 조정후 5분간 펄핑한 후 cellulase농도를 0.5 mg/mL로 고정시켰다. 진탕기 속에서 120 strokes/min로 10~60℃까지 변화시키면서 효소별로 8시간 가수분해시킨 후 상등액을 취하여 환원당을 정량하였다.

수율 및 물리적 강도 측정을 위한 재생펄프의 효소처리

준비된 고서적 시편 50 g을 0.05 M sodium acetate buffer, pH 5.0 용액에 넣어 펄프농도가 5% 되도록 조정후 표준 해리기(TAPPI standard)서 펄핑시켰다. 펄핑된 시료는 진탕기 120 strokes/min에서 50℃로 2시간 동안 효소별로 처리한 후 즉시 실험실에서 제작한 flotation cell에 넣어 부상부유시켜 잔유물을 제거시켰다.

수초지 제조

TAPPI standard T 205 om-88에 준하여 수초지를 제조하였으며, 압착이 끝난 습지는 건조기에서 105℃로 1시간 건조시켜 사용하였으며, 평량은 80 g/m²이었다.

수율측정

수율(%)은 아래 식에 의해 측정되었다.

$$\text{수율}(\%) = \frac{\text{Cell에 투입된 펄프양}(g) - \text{부상부유시 제거된 양}(g)}{\text{Cell에 투입된 펄프양}(g)} \times 100$$

수초지의 물리적 강도 측정

초지된 종이를 20℃, RH 65% 조건에서 24시간 이상 습도를 조절시킨후 TAPPI standard T 402 om-83에 의거 인장강도(T494 om-81), 파열강도(T403 os-76) 및 인열강도(T414 om-82)를 측정후 아래식으로 인장지수, 파열지수, 인열지수를 산출하였다.

$$\text{인장지수}(N.m/g) = 653.8 \times \text{인장강도}/\text{평량}$$

$$\text{파열지수}(kPa.m^2/g) = 98.07 \times \text{파괴하중}/\text{평량}$$

$$\text{인열지수}(mN.m^2/g) = 9.807 \times 16 \times \text{종이 1장당 파괴하중}/\text{평량}$$

Table 1. Enzyme activity of endoglucanase (endo I) and exoglucanase (exo II) purified from *Trichoderma viride* cellulase

Enzyme	Specific Activity(IU mg ⁻¹) Toward		
	CM-cellulose	Avicel	H ₃ PO ₄ -swollen cellulose
Endo I	17.6	0.0095	12.1
Exo II	0.09	0.0171	5.2

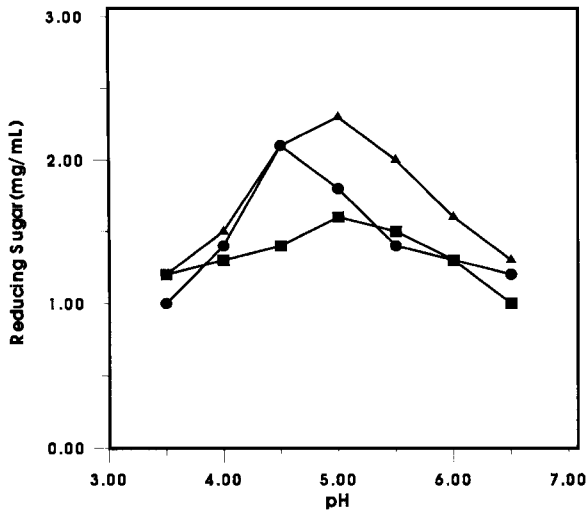


Figure 2. The Effect of pH on the degradation of old book(Hanji). endo I; (●), exo II; (■), endo-exo mixture (1 : 1); (▲).

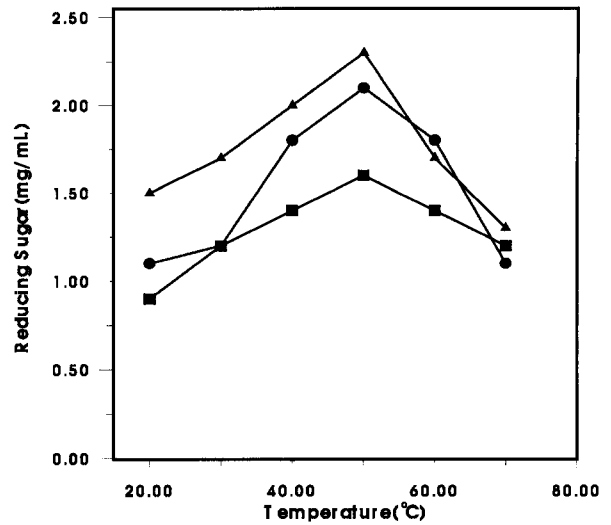


Figure 3. The Effect of temperature on the degradation of old book(Hanji). endo I; (●), exo II; (■), endo-exo mixture (1 : 1); (▲).

결과 및 고찰

pH 효과

Figure 2에 나타난 것과 같이 exo II와 endo I-exo II(1:1)혼합효소의 최적 pH는 5.0으로 나타났으며, endo I은 4.5로 나타났다. 이는 cellulase에 의한 섬유소의 가수분해가 산성 조건에서 잘 일어나는 것을 알 수 있다. 특히 endo I은 exo II보다 더 낮은 pH에서 활성이 큰 것을 알 수 있다. 이것은 지류문화재가 산성상태에서 cellulase의 손상을 더 크게 입을 수 있다는 것을 나타내 준다. 이 결과는 일부 논문에서 발표한 정제되지 않은 셀룰라아제(crude cellulase)의 종이 손상에 미치는 pH효과에 대한 연구결과와도 같음을 나타내 주고 있다(11).

이들 결과로부터 종이는 산성화가 될수록 산 가수분해가 일어나 종이의 열화요인이 되며 또한 cellulase의 활성 증가로 인한 손상이 더해지는 것을 알 수가 있으며 지류문화재의 보존에 있어서 지질의 산성상태나 공해로 인한 산성화는 그 보존에 있어 큰 장애 요인이 된다고 할 수가 있다.

온도효과

Figure 3에 나타난 것과 같이 모든 효소는 50°C 부근에서 최대의 가수분해율을 나타내고 있으며, 50°C 이상의 온도에서는 가수분해율이 급격히 감소하는 것을 알 수 있다. endo I과 endo I-exo II(1:1)혼합효소는 exo 성분보다 온도변화에 따른 가수분해 변화율이 커 온도영향을 더 받는 것으로 나타났다. 이는 exo성분보다 endo성분이 온도에 더 민감하다고 생각할 수 있다. 셀룰라아제로부터의 섬유질 문화재의 손상을 막기 위해서는 50°C 부근의 온도는 피하는 것이 유리하다는 것을 알 수 있다. 실제 문화재 보존에 있어서 50°C 이상의 고온유지가 어렵기 때문에 가능하면 저온유지를 해줄 필요가 있다.

환원당

Endo I, exo II, 과 endo I-exo II(1:1)혼합효소의 가수분해

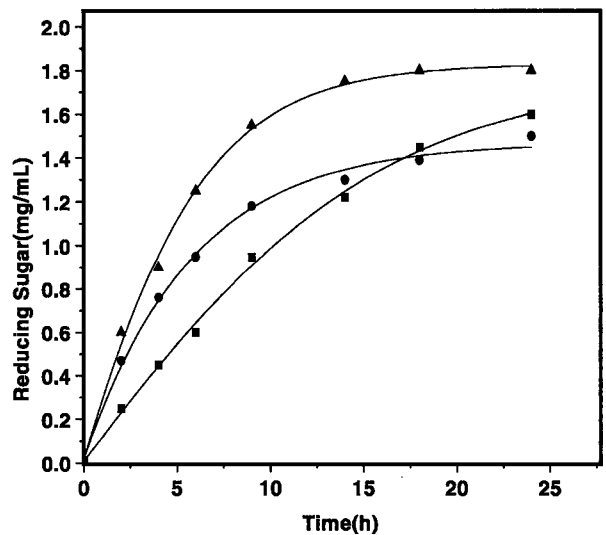


Figure 4. The concentration of reducing sugars in the degradation of old book(Hanji) as a function of hydrolysis time. endo I; (●), exo II; (■), endo-exo mixture (1 : 1); (▲).

에 있어서 시간에 따른 환원당은 Figure 4과 같다. 가수분해 시작 후 17시간까지는 endo I의 환원당이 높게 나타났으나 17시간 이후에서는 exo II성분의 환원당이 높게 나타났다. 이는 이들 성분들의 특성으로 endo 성분효소는 섬유소의 비결정성 부분에, exo성분은 결정성 부분에 작용하는 효소로 가수분해가 진행됨에 따라 섬유소의 결정성이 커져 endo보다 exo의 환원당이 커지는 것으로 해석할 수 있다. 두 성분을 혼합하였을 때는 이들 각각 성분보다 높게 나타나는데, 이는 이미 보고된 논문들(3,4)처럼 endo-exo성분들의 협력작용(synergistic action)의 결과임을 알 수 있다. 섬유질 문화재의 보존을 위해서는 cellulase성분들 중 초기에 작용하는 endo성분의 작용을 endo성분에 선택적으로 작용하는 활성 저해물질을 첨가하여 억제시키면 endo성분에 의한 손상 및 두 성분의 협력작용도 막을 수 있을 것이다.

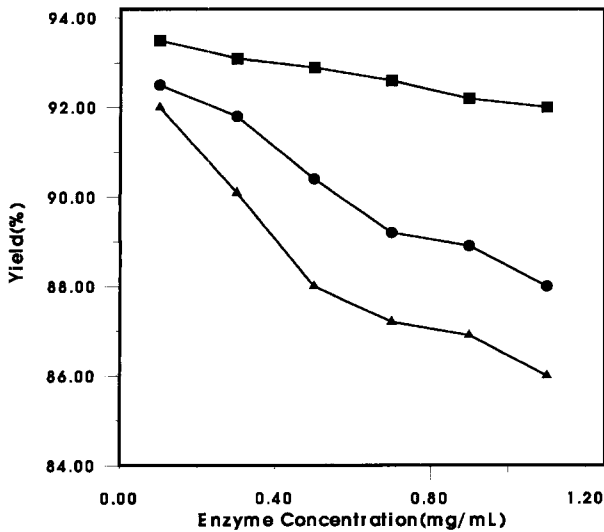


Figure 5. Yield of pulp treated with endo I, exo II and their mixture(1:1) with different enzyme concentrations. endo I; (●), exo II; (■), endo-exo mixture (1 : 1); (▲).

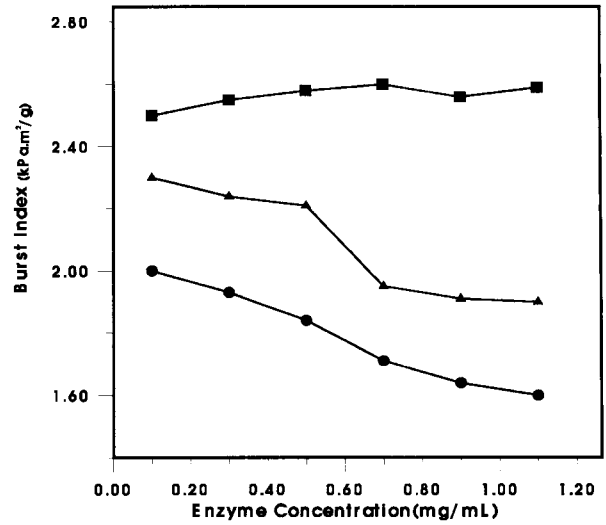


Figure 7. Burst index of pulp treated with endo I, exo II and their mixture(1:1) with different enzyme concentrations. endo I; (●), exo II; (■), endo-exo mixture (1 : 1); (▲).

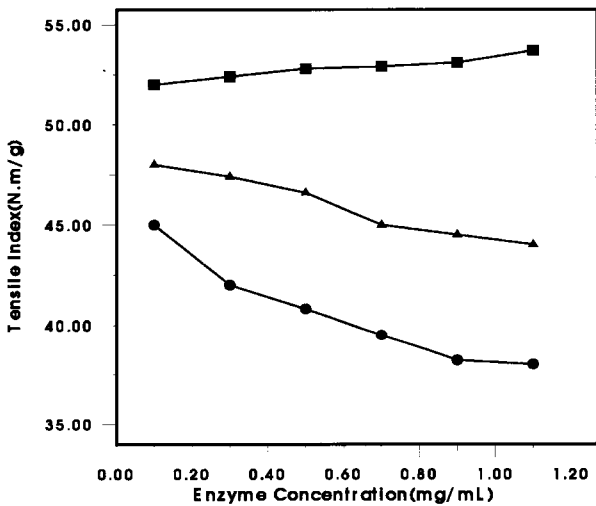


Figure 6. Tensile index of pulp treated with endo I, exo II and their mixture(1:1) with different enzyme concentrations. endo I; (●), exo II; (■), endo-exo mixture (1 : 1); (▲).

수 율

Figure 5에서 살펴보면 cellulase의 농도가 증가할수록 수율은 감소하는 것을 알 수 있는데, 이는 효소 첨가량이 증가할수록 섬유소의 단리가 많아져 미세섬유와 환원당량이 증가되어 부상부유시 제거되기 때문으로 생각된다. 특히 endo I-exo II(1:1)혼합효소의 수율이 가장 작게 나타나는데 이는 두 효소의 협력작용(synergistic action) 결과 섬유소의 손실이 커지기 때문이며, exo II성분효소는 농도에 따른 수율이 높게 나타나는데 이는 이미 보고된 것과 같이 섬유소의 비환원성 말단기로부터 셀로비오스(cellobiose)단위로 잘라내기 때문에 미세섬유의 양이 적게 생성되기 때문으로 생각된다(2). Endo성분이 exo성분보다 수율이 작은 것은 endo성분은 섬유소를 무작위 공격하여 미세섬유의 양을 증가시키고 그 결과 부상 부유시 섬유소의 손실을 크게 한 것으로 생각할 수 있다.

재생 종이의 물리적 강도

Figure 6에 나타난 것과 같이 재생종이의 인장강도는 endo I과 endo I-exo II(1:1)혼합효소로 처리했을 경우 농도의 증가에 따라 감소함을 보여 준다. 이는 Table 1에 나타난 endo의 환원당에 따른 점도변화에서 볼 수 있듯이, endo성분효소는 섬유소의 비결정성 부분을 주로 가수분해시켜 섬유소내에 있는 장섬유가 분해됨으로써 오는 강도저하로 생각을 할 수 있다. Exo성분으로 처리했을 경우 인장강도는 endo로 처리했을 때보다 높게 나타났으며, 또한 농도증가에 따라 향상되는 것을 보여주었다. 이는 섬유소에 있는 미세섬유를 분해시켜 상대적으로 장섬유의 비율을 높여 주기 때문으로 생각된다.

Figure 7에서 나타난 것과 같이, exo 성분으로 처리한 것은 파열지수가 endo 성분과 endo I-exo II(1:1)혼합효소로 처리한 것보다 높게 나타났으며, 농도에 따라 증가하는 것으로 나타났다. Endo성분과 endo I-exo II(1:1)혼합효소로 처리한 것은 농도증가에 따라 파열지수가 급격히 감소하는 것으로 나타났다. 즉 파열지수를 감소시키는 요인은 endo성분과 endo I-exo II(1:1)혼합성분의 협력작용에 기인한 것으로 생각된다.

Figure 8에서 나타난 인열지수도 위와 비슷한 결과를 얻었다. Endo성분과 endo I-exo II(1:1)혼합효소는 농도 증가에 따라 감소함을 보여 주었으며, exo 성분은 이들보다 인열지수가 높게 나타났으며, 농도 증가에 따라 인열지수도 향상되었다. 인열지수를 감소시키는 요인도 endo성분에 의한 것으로 생각되며, 두 성분의 효소의 협력작용에 의하여 섬유소의 인열지수가 더 저하됨을 알 수 있다.

Table 2는 효소로 처리한 재생펄프와 처리전 종이의 물리적 강도를 비교한 것이다. 이들 결과를 살펴보면 endo 성분과 endo-exo 혼합성분으로 처리한 펄프의 물리적 강도는 처리전 보다 낮은 것을 알 수 있다. 즉 셀룰라아제의 endo성분이 종이 열화의 주 요인으로 생각을 할 수 있다. 그러나 exo 성분으로 처리했을 때의 물리적강도는 효소로 처리하지 않은 것 보다 더 높게 나타났다. 이는 exo성분에 의해 미세 섬유가 분해되어 상대적으로 장섬유의 비율이 더 높아졌거나 exo

Table 2. Physical properties of pulp

	Endo I	Exo II	Endo I-Exo II mixture(1:1)	No treatment
Tensile Index(N.m/g)	40.8	52.8	46.6	50.6
Burst Index(kPa. m ² /g)	1.84	2.58	2.21	2.44
Tear Index(mN.m ² /g)	26	29.1	25.4	28.3

* Enzyme concentration : 0.5 mg/mL, Concentration of pulp : 5%, Reaction temperature, pH, and time : 50°C, 5.0 and 2 hr

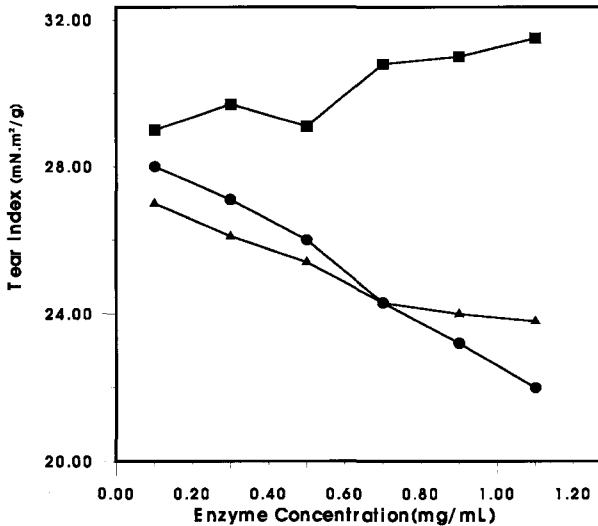


Figure 8. Tear index of pulp treated with endo I, exo II and their mixture(1:1) with different enzyme concentrations. endo I; (●), exo II; (■), endo-exo mixture (1 : 1); (▲).

성분 효소의 특징 중 하나인, 섬유를 흘뜨리는 피브릴화에 의한 비표면적의 증대에 따른 강도의 증가 때문으로 생각된다. 이는 Chanzy(12) 등의 exo 성분효소에 의한 셀룰로오스 엘리멘터리 피브릴 구조변화 관찰결과와 일치한다. Exo 성분 효소의 구조는 셀룰로오스를 자르는 부분인 catalytic domain과 흡착하는 부분인 binding domain으로 되어있으며, binding domain의 기능은 cellulose에 대한 흡착뿐만 아니라 섬유소를 파쇄쳐 흘뜨리는 기능이 있는 것으로 알려져 있다(13).

Endo성분과 endo I-exo II(1:1)혼합성분에 의한 물리적 강도는 exo성분보다 낮게 나타났으며, endo I-exo II(1:1)혼합효소에서 물리적 강도가 가장 낮게 나타났는데, 이는 endo성분 단독으로 처리했을 경우 셀룰로오스 표면의 peeling off작용에 의한 세포벽의 박리화(14)의 증가에 의해 섬유자체의 강도가 저하된 것으로 생각된다. 또한 혼합성분의 강도저하는 Oltus(15) 등이 주장한 것과 같이 endo성분의 영향과, 두 효소의 협력작용의 영향인 것으로 생각된다. Exo 성분의 물리적 강도는 다른 성분들에 비하여 높게 나타났는데, 이는 exo 성분 단독으로 존재했을 때, 섬유의 물리적 손상을 가져오지 않는 것으로 해석할 수 있다.

일반적으로 자연에 존재하는 crude cellulase에는 exo성분이 60% 이상 차지하고 있다. 또한 보고에 의하면(16), 혼합 성분비에 따른 가수분해율은 exo성분 효소의 비가 많은 경우에(endo : exo=1 : 2) 크게 나타난다. 즉 자연에 존재하는 셀룰라아제(crude cellulase)에는 endo성분이 적으나 섬유소의 가수분해는 이들 효소에 의하여 주도되는 것을 알 수 있다. 즉 섬유질 문화재의 손상은 cellulase성분 중 endo성분에 의하여

주로 일어나는 것을 알 수 있다. 단지 exo성분은 섬유소의 비환원성 말단기를 cellobiose상태로 분해시켜 지류의 물리적 손상은 입히지 않는 것으로 나타났다. 그러나 두 효소가 함께 존재할 경우는 협력작용에 의하여 그 손상이 더 커지는 것을 알 수 있다.

셀룰라아제로부터 섬유질 문화재를 보존하려면 이들의 활성을 억제할 수 있는 조건인 아주 낮은 온도나 높은 온도를 유지해 주거나, 또는 습도를 낮추어 주어야 할 것이다. 그러나 너무 저온 건조하면 섬유질의 결정이 절단되어 물리적 강도의 저하를 가져온다. 현재 알려진 섬유질 문화재 보존의 이상적인 환경은 20°C 이하이고 상대습도는 55~65%이다. 이들 환경을 유지하면서 셀룰라아제로부터의 손상을 막으려면 이들 효소에 활성을 억제시켜 줄 수 있는 물질을 발견할 필요가 있다.

섬유질 문화재를 보존하기 위해서는 endo 성분의 활동을 억제시킬 수 있다면 그 손상을 줄일 수 있을 것이다. 따라서 이들 문화재를 보존하기 위해서는 endo성분 효소의 활성을 저해(inhibition)할 수 있는 안전한 보존 물질을 찾을 필요가 있다.

요 약

한지로 된 고서적의 가수분해가 *Trichoderma viride*로부터 분리한 endoglucanase I, exoglucanase II와 endo-exo혼합효소(1:1, weight ratio)에 의하여 수행되었다. Endoglucanase I, exoglucanase II와 endo-exo혼합효소에 의한 가수분해 최적 pH는 각각 4.5, 5.5, 5.0으로 나타났다. 이들 결과들은 지류문화재의 열화가 산성조건에서 셀룰라아제의 활성을 증가시켜 촉진될 수 있음을 보여준다. 또한 이들 효소들에 의한 분해에 있어서 최적 분해온도는 모두 50°C를 보여주었다.

고서적의 재생필프를 이들 효소로 처리했을 때 수율(yield)과 물리적 강도(physical strength)를 살펴보면, 수율은 이들 효소의 농도 증가와 함께 감소함을 보여 주었다. 특히 endo-exo혼합효소로 처리했을 때 가장 낮은 값을 보여 주었다. 이는 endo성분과 exo성분의 협동작용(synergistic action)에 의한 것으로 생각할 수 있다. 물리적 강도는 exo II로 처리했을 경우 농도 증가에 따라 향상됨을 보여 주었으며, exoglucanase II와 endo-exo혼합효소로 처리했을 경우는 농도에 따라 감소함을 보여 주었다. 이들 결과들은 고서적의 분해(열화)가 endoclucanase에 의한 것임을 보여 준다. 즉 지류문화재의 물리적 강도를 저하시키는 주요 성분 효소는 endoglucanase이며 지류문화재의 효과적인 보존을 위해서는 endoglucanase성분의 활성을 억제시킬 필요가 있다.

REFERENCES

1. Reese, E. T., R. G. H. Shi, and H. S. Levinson (1950), *J. Bacteriol.* **58**, 485.
2. Wood, T. M. and S. I. McCrae (1978), *Biochem. J.* **171**, 61.
3. Beldman, G., A. G. J. Voragen, F. M. Ronbouts, and W. Pilnik (1988), *Biotechnol. Bioeng.* **31**, 173.
4. Nidetzky, B., M. Hayn, R. Maacarron, and W. Steiner (1993), *Biotechnol. Lett.* **15**, 71.
5. Hoshino, E., T. Kanda, Y. Saaki, and K. Nisizawa (1992), *J. Biochem.* **111**, 600.
6. Kim, D. W., Y. K. Jeong, Y. H. Jang, and J. K. Lee (1994), *J. Ferment. Bioeng.* **74**, 77.
7. Kim, D. W., Y. H. Jang, and Y. K. Jeong (1997), *Biotechnol. Lett.* **19**, 893.
8. Kim, D. W., Y. H. Jang, and Y. K. Jeong (1998), *Biotechnol. Appl. Biochem.* **27**, 97.
9. Lowry, O. H., N. J. Rosebrough, A. E. Farr, and R. J. Randall (1951), *Biol. Chem.* **193**, 265.
10. Summer, J. B., and G. F. Somers (1944), *Laboratory Experiments in Biological Chemistry*, p 34-37, Academic Press, New York.
11. Han, S. H., K. S. Lee, Y. J. Chung, and H. Y. Lee (1998), *Res. of Conserv. Sci.* **19**, 3.
12. Chanzy, H. and B. Henrissat (1985), *FEBS Lett.* **184**, 285.
13. Teeri, T., T. Reinikainen, L. Ruohonen, T. A. Jones, and J. C. Knowles (1992), *J. Biotech.* **24**, 169.
14. Kim, B. H., and J. Jun (1994), *J. Kor. Tappi*, **26**, 23
15. Oltus, E. (1987), *Techonol.* **21**, 668.
16. Kim, D. W., Y. K. Jeong, and J. K. Lee (1994), *Enzyme Microb. Technol.* **16**, 649.