

## Production of cellulases and hemicellulases by *Aspergillus niger*

강 성우<sup>1</sup>, 박 양순<sup>1</sup>, 김 승욱<sup>\*</sup>

고려대학교 <sup>1</sup>생명공학원, <sup>\*</sup>화공생명공학과

바이오매스로부터 에탄올을 생산하는 공정은 원료 물질의 재생성 및 생산 연료의 환경 친화성 등 많은 장점을 갖고 있다. 리그노셀룰로스계 폐기물로부터 에탄올을 생산하여 대체 연료로 활용하고자 하는 많은 시도가 있었으나, 생산된 에탄올은 휘발유에 비해 생산 단가가 너무 높아 실용화에 장애가 되고 있다. 이러한 에탄올 생산 공정 비용의 가장 큰 부분은 당화효소 생산단가로서 전체 비용의 약 60%에 해당한다. 따라서 당화효소 생산비용을 낮추기 위해서는 볏짚, 겨, 간벌재 등 농 임산 폐기물과 폐지 등 값싼 물질을 생산기질로 활용하는 것이 바람직하다.

본 연구에서는 당화효소를 보다 경제적으로 생산하기 위해 액체배양과 고체배양에서 리그노셀룰로스계 폐기물 기질에 대해 효소 생산성을 검토하였다.

섬유소 가수분해 효소를 생산하는 곰팡이를 선별하는 과정에서 *Aspergillus niger* KKS (ATCC 201201)가 선별되었으며, 이 균주를 2% (w/v) 볏짚에서 액체배양하였을 때 CMCase (3.80 IU/ml), FPase (0.68 IU/ml),  $\beta$ -glucosidase (4.2 IU/ml), xylanase (80.0 IU/ml) 그리고  $\beta$ -xylosidase (4.0 IU/ml)활성들을 보였다.

가장 강력한 섬유소가수분해 활성을 갖는 곰팡이는 *Trichoderma reesei* Rut C-30이지만, 이 균주가 생산하는  $\beta$ -glucosidase는 분비되는 전체 단백질의 1%밖에 되지 않아 섬유소 당화를 제한하는 것으로 알려져 있다. Rut C-30의 낮은  $\beta$ -glucosidase 활성 문제는 다른 종에서 유래된  $\beta$ -glucosidase를 첨가함으로써 해결될 수 있다.

$\beta$ -Glucosidase 고생산 균주를 선별하기 위하여 모균주인 *A. niger* KKS를 UV 처리하여 돌연변이를 유발시킨 후 xylan 선별배지에서 *A. niger* KK1 mutant를 선별하였으며, *A. niger* KK1 mutant를  $\gamma$ -ray 처리하여 최종적으로  $\beta$ -glucosidase 생산이 우수한 *A. niger* KK2 mutant를 선별하였다. *A. niger* KK2 mutant를 2% (w/v) 볏짚과 1.0% (w/v) 밀기울이 포함된 배지에서 액체배양했을 때 최대활성과 수율은 각각 10.3 IU/ml, 514 IU / g of ground rice straw이었다. 그리고 나무칩 당화잔사 (wood waste)와 신문지 당화잔사 (paper waste)에서 배양하였을 때는  $\beta$ -glucosidase 활성이 각각 6.4 IU/ml와 6.7 IU/ml이었다.

*A. niger* KK2는 xylan 선별배지에서 선별되었기 때문에 hemicellulases 활성도 크게 증가되었다. *A. niger* KK2를 2% (w/v) 벚짳과 1.0% (w/v) 밀기울이 포함된 배지에서 액체배양했을 때 xylanase와  $\beta$ -xylosidase 활성은 각각 340 IU/ml와 11.4 IU/ml이었다.

*A. niger* KK2의 생산배지를 one-factor-at-a-time으로 최적화했을 때 xylanase와  $\beta$ -xylosidase 활성이 각각 42%와 38% 증가되었다. 한편 통계학적 방법으로 최적화했을 때는 xylanase 활성이 83% 증가되었다.

고체배양은 액체배양보다 여러 장점을 가지고 있다. 특히, 효소를 농축된 상태로 생산할 수 있어 분리, 정제가 쉬워지므로 효소 생산단가를 크게 줄일 수 있다. 그러므로 *A. niger* KK2를 고체배양하여 효소생산을 검토하였다. Xylanase 생산을 위한 배양배지와 배양조건이 통계학적 방법 ( $2^{4+1}$  fractional factorial design과 RSM)으로 최적화하였을 때 xylanase 활성과 생산성이 각각 5,071 IU/g of rice straw와 14,790 IU/L/hr이었다. 또한 최적화된 조건에서의 FPase, CMCase,  $\beta$ -glucosidase 그리고  $\beta$ -xylosidase 최대활성이 각각 19.5 IU/g, 129 IU/g, 100 IU/g 그리고 193 IU/g이었다.