

## 農産廢資源의 利用에 關한 研究

(第一報) 酸糖化 및 糖化液을 利用한 酵母 生産

裴 武·金 炳 弘·尹 愛 淑  
(韓國科學技術研究所, 應用微生物研究室)

Studies on the Utilization of Agricultural Wastes.

(Part 1) Acid-Hydrolysis of Straws and the Utilization of the Hydrolyzate

M. Bae, B. H. Kim and A. S. Yoon

(Applied Microbiology Lab., Korea Institute of Science and Technology, Seoul, Korea)

(Received April 5, 1973)

### Abstract

A method for acid-hydrolysis of agricultural wastes and its utilization was investigated.

In order to obtain fermentable sugar solution from cellulosic wastes such as cereal straws and hulls, in particular, of rice, barley and wheat, the chemical compositions were analyzed and optimum conditions of hydrolysis determined.

The cereal straws contain 42 to 55% of crude cellulose including hemicellulose.

On the hydrolysis with 1% of sulfuric acid at 40 psig, 35.6% of the reducing sugar based on the weight of dry matter was formed from rice straw, (variety Chinheung) in 30 min.

More powerful condition of hydrolysis would appear to decompose the sugar formed into other compounds, for instance, furfural.

Under atmospheric pressure with 5% of the acid, rice straw was hydrolyzed to 35% of reducing sugar content in 3 hours.

*Candida utilis* could assimilate the sugars in the hydrolyzate up to more than 97%, and a yield of the yeast cells reached 55% to the utilized sugars.

### 서 論

農作物이 光合成하여 生成하는 有機物의 전체량을 볼 때 主産物은 극히 적은 일부에 지나지 않고 그 대부분은 고등동물이 소화하지 못하는 纖維素이다. 이들 纖維素, 즉 農産廢資源의 이용도를 높이기 위해서 間接적인 農業增産을 가져 올 수 있고 특히 飼料 혹은 食糧資源으로 이용하면 지구상의 모든 식물체 및 纖維素를 함유하는 폐기물을 이러한 용도로 사용할 수 있게 되어 큰 의의를 갖는다.

실제 農産廢資源의 이용도를 높이기 위해 많은 연구가 있었다. 그 대표적인 것으로 pulp 제조에 관한 연구<sup>(1-9)</sup>와 糖化液제조에 관한 연구를 들 수 있다. 원료인 農産廢資源 중에는 목재에서보다 lignin, hemicellulose 및 회분의 함량이 높아 pulp 제조시에 많은 약품이 필요하며 제조된 pulp의 질도 낮아 실용화 되지 못하고 있는데 비해 糖化는 목재보다 쉽다.

본 연구에서는 우리나라 農産廢資源의 주류를 이루는 禾本科 作物의 糞류를 원료로 발효가능한

당류 혹은 사료를 생산하는 방법을 확립하기 위해 일련의 연구를 시도하고 그 연구의 첫 단계로 화학적 처리에 의한 糖化液 제조 및 糖化液에서 酵母 생산에 관하여 보고한다.

cellulose와 hemicellulose를 함유하는 목재나 農産廢資源을 화학적인 방법으로 糖化시키기 위해 無機酸 즉, 황산이나 염산이 사용되고 있으며 특히 황산이 효과적이다<sup>(10)</sup>.

벼짚을 황산으로 가압하에서 糖化시켜 원료에 대하여 Julsingha<sup>(11)</sup>는 20%, Gutgerts<sup>(12)</sup>는 50%의 환원당을 생산하였으며 高田<sup>(13)</sup>등은 糖化조건을 높여 가며 3회에 걸친 糖化로 47%의 환원당을 얻어 여기서 22%의 건조 효모를 얻었다.

Dudkin<sup>(14)</sup>등은 벼짚을 황산으로 糖化시킬때 쉽게 糖化되는 부분에 Xylose, Arabinose, Glucose, Galactose, Uronic acid가, 이보다 糖化조건을 높이면 Glucose, Galactose, Xylose, Uronic acid가 열거한 순서의 양으로 생성됨을 밝혔으며, 쉽게 糖化되는 부분의 손실을 막기 위해 2차에 걸친 糖化로 환원당수율이 높아 짐을 밝혔다<sup>(14)</sup>.

또한 Machevitstaya<sup>(15)</sup>는 糖化液 중의 pentosan 등 hemicellulose에서 유래하는 furfural, formic acid 등이 미생물의 생육을 억제하며 80°C에서 aeration하면 이들을 제거할 수 있다고 하였다.

최근 Repka<sup>(16)</sup>등은 8% 염산을 사용하여 農産廢資源의 연속糖化를 시도하였으며 Padilla<sup>(17)</sup>는 묽은 황산과 효소를 사용하여 결정 포도당을 생산할 수 있음을 발표 했다.

### 실험 재료 및 방법

#### 실험 재료

벼짚은 농림부 농촌진흥청 작물시험장에서 재배한 통일 및 진흥 품종을 사용하였으며 보릿짚과

밀짚은 경기도 파주군 및 광주군에서 재배한 것을 각각 사용하였다.

#### 農産廢資源의 일반성분 분석법

수분, 회분, 조지방은 상법에 따라 중량법<sup>(18)</sup>으로 정량하였으며 조단백은 Macro-Kjeldahl법<sup>(19)</sup>으로 질소를 정량하여 6.25를 곱하여 그 양으로 하였다. Alcohol-Benzene 추출물, lignin의 양은 TAPPI standard method<sup>(20)</sup>로 정량하고 전체 중량에서 상기한 성분의 양을 제한 값을 조점유의 양으로 계산하였다.

#### 酸糖化법

0.1%~20.0%의 황산을 원료에 대하여 10배 혹은 25배 가하여 상압일 때는 환류냉각기를 부착하여 가열하고 가압일 때는 15, 40, 90, 150, 200 psig로 고정시킨 autoclave에서 10분 혹은 30분간 糖化시켰다.

#### 糖化물 측정법

糖化液을 CaCO<sub>3</sub>로 중화하고 여과하여 상등액 중의 환원당을 Somogi-Nelson<sup>(21)</sup>법으로 측정하여 Glucose의 양으로 환산하고 원료에 대한 중량비로 나타내었다.

#### 單糖類의 paper chromatography

糖化液을 rotary evaporator로 40°C 이하에서 완전히 건조시킨 후 95% ethyl alcohol로 추출하여 그 일정량을 Toyo No. 51 chromatography용 paper에 Spot하여 Batanol-pyridine-H<sub>2</sub>O(6:4:3v/v) 용매계에서 실온 상승법으로 2회 전개하여 aniline-H<sub>2</sub>-phthalate<sup>(22)</sup>법으로 발색시켰다.

#### Paper chromatography에 의한 單糖類의 정량법

Wilson<sup>(23)</sup>의 방법에 따라 Pentose와 hexose를 분리 정량하였다.

Table 1 General Compositions of Agricultural Wastes.

Composition Specimen	Unit : %						
	Moisture	Lignin	Ash	Alcohol-Benzene extract	Crude protein	Crude fat	Crude* cellulose
Rice Straw Tongill	7.4	11.6	18.3	11.3	6.0	1.6	43.8
Chinheung	6.7	12.4	13.7	6.5	3.6	0.9	56.2
Rice Hull	9.4	13.7	13.4	4.0	4.0	2.3	54.4
Barley Straw 1**	9.9	17.4	4.5	16.0	2.3	2.3	47.6
11	10.7	17.3	3.6	15.0	4.8	2.8	45.8
Wheat straw	10.3	18.2	5.7	17.4	3.6	2.5	42.3

\* Crude cellulose contains cellulose, hemicellulose and pectine.

\*\* Barley straw I, II derived from difference of growing district.

**糖化液에서 酵母 배양 및 균체량 측정법**

중화 여과한 糖化液에 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.6%, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.1%, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.2% K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.03% NaCl 0.1%를 가하여 만든 배지에 *Candida utilis* NCYC 707를 접종하여 28°C에서 48시간 진탕배양하여 배양액 일정량 중의 건조 균체량을 감압건조 하여 측정하였다.

**결과 및 고찰**

**1. 農産廢資源의 一般成分**

벼짚, 밀짚, 보릿짚, 왕겨등 본연구에서 사용한 農産廢資源의 일반성분은 Table 1과 같다. 벼짚

의 품종이나 보릿짚의 산지에 따라 그 성분함량이 각각 다름을 볼 수 있으며 이러한 차이는 타 연구자의 결과에서도 볼 수 있다<sup>(24, 25)</sup>.

**2. 황산에 의한 糖化조건에의 검토**

**1) 산농도 및 가열온도의 영향**

25배 양의 0.1~20.0% 황산으로 0~200 psig에서 벼짚과 왕겨를 30분간 糖化시켜 표 2 및 3의 결과를 얻었다. 표에서 1% 황산으로 90psig로 당화시키는 것이 가장 효과적이며 이보다 높은 조건에서는 糖化율이 낮다. 이는 생성된 환원당이 분해하는 것으로 생각할 수 있다.

**Table 2** Effects of H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> Concentration and Pressure on the Hydrolysis of Rice Straw

H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> CONC. (%)		Hydrolysis Rate(%)								
		0.1	0.3	0.5	1.0	2.0	5.0	10.0	15.0	20.0
Pressure(Psig)	Variety									
0	Tongill				3.5		19.0	22.0		
	Chinheung				10.5		24.3	28.7		
15	Tongill		7.0		11.0	9.0	16.0	20.0		
	Chinheung		7.5		18.5	19.0		25.0		
40	Tongill			18.4	20.4	18.0	16.4	17.2	12.6	12.6
	Chinheung			24.6	24.6	21.2	20.8	18.4	14.5	14.0
90	Tongill	3.1	18.8	21.4	29.4	24.4	11.3	0	0	
	Chinheung	23.7	28.4	28.4	35.6	23.8	20.2	17.5	0	
150	Tongil	16.9	11.9	11.9	6.9	0	0	0	0	
	Chinheung	7.5	16.9	16.9	9.4	0	0	0	0	
200	Tongill	2.5	12.5	12.5	0	0	0	0	0	
	Chinheung	8.0	16.0	14.5	0	0	0	0	0	

Hydrolysed for 30 min.  
at solid/liquid ratio of 1/25.

**Table 3** Effects of H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> Concentration and Pressure on the Hydrolysis of Rice Hull.

H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> CONC. (%)		Hydrolysis rate (%)								
Pressure(psig)		0.1	0.3	0.5	1.0	2.0	5.0	10.0	15.0	20.0
0							1.6	19.5		
15			4.8		6.0		18.0	18.5		
40				18.4	17.6	17.6	16.4	17.5	16.6	11.2
90		19.4	25.6	25.0	28.0	25.0	29.4	0	0	0
150		18.7	17.5	17.5	7.1	0	0	0	0	0
200		11.5	16.0	6.0	0	0	0	0	0	0

Hydrolysed for 30 min.  
at solid/liquid ratio of 1/25.

**2) 糖化時間의 영향**

전 실험 결과에서 당화조건이 높으면 당화로 생성된 당이 분해됨을 보았다.

糖化시간을 줄이면 분해로 인한 당의 손실을 방지할 수 있을 것으로 생각하고 25배의 0.5 및 5.0% 황산으로 10분 및 30분간 糖化시켜 Table 4의

결과를 얻었다. 30분에서 보다 10분간 糖化시켰을 때 전반적으로 糖化율이 높아 지고 있다. 이는

0.5% 황산, 40 psig의 조건에서도 30분간 糖化시키면 당이 분해됨을 말하고 있다.

Table 4. Effect of Time on Acid-Hydrolysis of Rice Straw and Hull.

Pressure (psig)	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> conc. (%) Time (min.) Specimen	Hydrolysis rates (%)			
		0.5		5.0	
		10	30	10	30
40	Straw Tongill	22.2	18.4	22.0	16.4
	Chinheung	30.2	24.6	32.0	20.8
	Hull	25.2	18.4	24.5	16.4
90	Straw Tongill	21.5	21.4	—	11.3
	Chignenu)	27.7	28.4	—	20.2
	Hull	24.0	25.6	—	19.4
150	Straw Tongill	23.0	11.9	2.0	0
	Chiuheung	26.9	16.9	1.0	0
	Hull	26.3	17.5	4.0	0

Solid/Liquid ratio (W/V):1/25.

3.) 糖化 조건의 변화에 따른 糖化液 조성의 변화  
지금까지 황산농도나 糖化온도가 높거나 糖化시간이 길어지면 생성된 당이 분해됨을 보았다.

서론에서 기술한 바와 같이 당의 분해산물인 furfural 등은 균의 성장 저해물질 이므로 이것의 양이 적은 糖化液 일수록 발효기질로 사용하기에 적당하므로 비교적 분해하기 쉬운 pentose의 변화를 측정하여 최적조건을 확립하기 위해 압력을 달리하여 糖化시킨 액 중의 pentose, hexose 함량의 변화를 측정하여 Table 5의 결과를 얻었. pentose 양은 40 psig에서 가장 많고 그 이상에서는 계속 감소하므로 이조건으로 糖化시킨 것이 발효 기질

Table 5. Influence of Pressure on the Formation of Pentose and Hexose in Acid Hydrolysis of Rice Straw.

Pressure (psi)	Pentose		Hexose	
	μg/25μl of sugar soln.	Percent to straw	μg/25μl of sugar soln.	Percent to straw
15	20	2.0	80	8.0
40	90	9.0	210	21.5
90	50	5.0	235	23.5
150	10	1.0	260	26.0

Hydrolysed for 10 min.

Sample: Chinheung

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> Conc r: 0.5%

Solid/Liquid Ratio: 1/25

로 가장 적합함을 알았다.

4.) 원료와 산용액 비율의 변화에 따른 영향

지금까지 원료에 대하여 25배 양의 황산용액을 사용하였으나 실제 糖化液을 이용하려면 당의 농도가 높아야 경제적이므로 원료와 산용액의 비율을 1/10으로 높여 糖化시킨 결과 糖化율에는 거의 변화가 있었다. (Table 6)

Table 6 Effects of Solid/Liquid Ratio on Acid Hydrolysis of Rice Straw.

Specimen	Hydrolysis Rate %	
	1/10	1/2
Chinheung	30.8	30.5
Tongill	22.2	22.2

Hydrolysed for 10 min. under 40 psi. pressure with 0.5% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

이상의 결과에서 볏짚 등의 農産廢資源을 황산으로 糖化시킨 것을 발효기질로 사용 할려면 1.0~2.0%의 황산 10배 양으로 40psig 압력하에서 10분간 糖化시키는 것이 가장 효과적이며, 이 때 糖化율은 원료에 대하여 30~35% 이었다.

5) 常壓에서의 糖化

農産廢資源을 工業적으로 가압糖化시키려면 많은 문제점이 있어 常壓下에서 비교적 高濃度의 황산, 즉, 2~5%의 황산으로 장시간 糖化시켜 Fig. 1과 같은 결과를 얻었다.

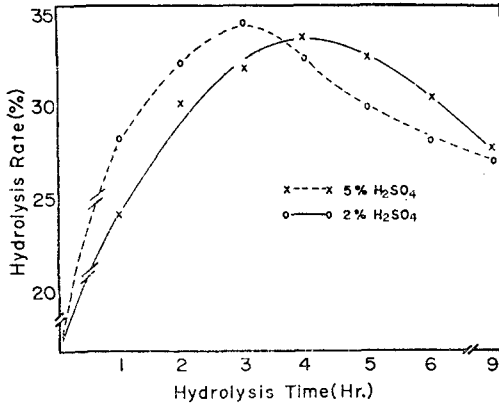


Fig. 1 Effect of Time on the Acid-Hydrolysis of Rice Straw under the Atmospheric Pressure.

### 3. 糖化液에서 酵母生産

15 및 40 psig로 당화시킨 벃짚, 보릿짚, 밀짚당 화액에 무기염을 첨가하여 본 연구실 보존균인 *Candida utilis* NCYC 707을 48시간 전당배양한 결과 초기 당의 90% 이상이 소비되었으며 소비 당의 50~55%의 균체가 생산되었다(table 7)

이상의 결과에서 禾本科 작물의 짚중에는 조섬유가 약 50% 함유되어 있으며 황산으로 당화시켜 조섬유의 약 60% 이상을 발효 가능한 당으로 얻을 수 있고 酵母를 배양하면 조섬유소에 대하여 약 15%의 균체를 생산할 수 있음을 알 수 있다.

### 요 약

1. 禾本科 作物의 짚 중에는 조섬유소, 즉, cellulose 및 hemicellulose 등 다당류의 양이 42~55% 함유되어 있으며 同一 作物이라도 품종이나

Table 7 Yeast Production with Acid-Hydrolyzate of Straws.

Specimen	Hydrolysis			Yeast Cultivation		
	Pressure cpsi	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> Conc. (%)	Reducing sugar/straw (%)	Sugar utilized/total	Cell wight/sugar	
Rice Straw Tongill	40	1.0	23.0	91.3	50.5	
		0.5	17.2	91.3	55.3	
Chinheung	40	2.0	20.5	97.6	55.8	
		1.0	26.8	92.5	50.8	
Barley Straw	40	0.5	23.7	92.4	53.7	
		15	2.0	22.2	96.6	58.1
Wheat Straw	40	1.0	30.7	90.9	41.2	
		0.5	16.2	90.1	55.5	
Wheat Straw	40	15	2.0	31.5	98.4	52.1
		1.0	30.0	92.3	52.3	
		0.5	18.5	93.5	56.5	

재배조건이 다르면 성분의 차이가 있었다.

2. 황산 糖化液을 醱酵에 使用하려면 1~2%의 황산으로 40psig에서 10분간 糖化시키는 것이 가장 적당하였으며 이 때 糖化율은 원료에 대하여 30~35% 이었다.

3. 황산糖化에서 40psig 이상으로 가열하면 hexose의 양은 증가하나 peotose의 양은 감소하였다. 이는 pentose가 furfural 등 발효저해 물질로 분해되기 때문이다.

4. 벃짚을 常壓에서 2~5%의 황산으로 가열하

여 3~5시간에 원료에 대하여 약 35%의 환원당이 생성되었다.

5. 40psig 이하에서 얻은 糖化液에서 *Candida utilis* NCYC 707을 배양하여 소비당의 50~55% 균체를 생산하였으며 이 때 당소비는 초기 당의 90% 이상이였다.

이 연구의 일부는 1972년도 과학기술처와의 조사연구개발 용역 계약에 의하여 수행한 연구 결과이다.

## 참 고 문 헌

- 1) 田豊鎮, 林應極: 大韓化學誌 1 1 (1946)
- 2) 黃東棋, 田豊鎮: 漢大論文集 1 (1960)
- 3) 成周慶, 田豊鎮: 漢大論文集 2 (1962)
- 4) 金允鎬, 田豊鎮: 漢大論文集 2 (1962)
- 5) 田豊鎮: 學술원 논문집 4 (1963)
- 6) 田豊鎮: 大韓化學誌 7 42 (1963)
- 7) 渡邊大藏: 日農化 27 367 (1953)
- 8) 渡邊大藏: 日農化 27 370 (1953)
- 9) 渡邊大藏: 日農化 27 735 (1953)
- 10) 高田亮平: 佐佐木博介: 日釀學誌 20 118 (1942)
- 11) Julsingha, J. V.: *Chem. Week Blad.* 37 649 (1940)
- 12) Gutgerts, N.: *Spirto-vodochnaya Prom.* 14 52 (1937)
- 13) Dudkin, M. S., N. G. Shkantova, N. S. Skornyakova and N. A. Lemle: *Chem. Ab.* 59 8960h (1962)
- 14) Hokaaido Prefecture: *Japan Pat.* 5249(1963)
- 15) Machevitskaya, S. G.: *Chem. Ab.* 33 3517<sup>r</sup> (1938)
- 16) Repka, V. P. and V. G. Panasyuk: *Khim. Tekhnol.* 13 55 (1968)
- 17) de Padilla, F. H. and F. H. Hoskins: *J. Agr. Food Chem.* 16 735 (1968)
- 18) 東京大學 農學部 農藝化學教室: 實驗農藝化學 (朝倉書店, 日本, 東京) 上卷 112 (1967)
- 19) Association of Official Agr. Chemist: *Official Methods of A. O. A. C.*, A. O. A. C. New York 10th ed. 15 (1965)
- 21) Tech. Associat. of Pulp and Paper Industry: TAPPI Standard Method, New York (1961)
- 22) Somogi, T.: *J. Biol. Chem.* 195 19 (1952)
- 23) Wilson, S. M.: *Anal. Chem.* 31 1199 (1959)
- 24) 田豊鎮: 漢大創立30周年記念論文集 113(1969)
- 25) 田豊鎮: 黃東棋: 漢大創立30周年記念論文集 90 (1969)