

D-Xylose로부터 에탄올 생산

方 元 基

(고대 농대 농화학과 교수 · 이학박사)

李 相 協

(고대 농대 농화학과 · 박사과정)

目 次

- I. 머 리 말
- II. Hemicellulose의 이용성
- III. D-Xylose의 대사
- IV. 효모에 의한 D-Xylose로부터 에탄올 생산
- V. 세균에 의한 D-Xylose로부터 에탄올 생산
- VI. Hemicellulose hydrolysates로부터 에탄올 생산
- VII. 맺 음 말

I. 머 리 말

D-Xylose를 포함한 pentoses는 재생 biomass의 약 40%를 구성하는 hemicelluloses에 풍부하게 존재한다.

목재나 농업 부산물의 hemicelluloses에 존재하는 탄수화물(주로 D-xylose)이 에탄올 생산에 중요한 원료가 될 수 있는 요인은 ① 이들 탄수화물이 다양한 재생 biomass에 풍부하다. ② 온화한 산 가수분해 공정에 의해 고수율로 회수된다. ③ 에탄올로의 전환을 위한 발효 공정이 개발되어 있다는 점이다.

최근에 D-xylose로부터 에탄올 생산을 유망하게 하는 몇 가지 발견이 이뤄졌다. 첫째, D-xylose를 발효시킬 수 없는 것으로 알려진 재래의 효모(주로 *Saccharomyces* 속)가 D-xylose의 이성체인 D-xylulose를 혐기적으로 이용할 수 있다는 점이다.¹⁾ D-xylose는 xylose isomerase에 의해 D-xylulose로 전환될 수 있기 때문에 xylose isomerase와 효모를 이용하는 2단계 에탄올 발효공정이 개발되고 있다.^{2,3)} 둘째, *Pachysolen* 속⁴⁾이나 *Candida* 속⁵⁾에 속하는 몇종의 효모가 호기적 또는 혐기적으로 D-xylose를 에탄올로 직접 전환할 수 있다는 것이다. 이 밖에도 *Fusarium* sp.⁶⁾나 *Mucor* sp.⁷⁾도 D-xylose를 에탄올로 직접 전환시키는 것으로 알려져 있다. 그리고 다수의 세균들이 에탄올, 초산, 2, 3-butanediol, acetone, isopropanol, butanol등의 유용한 물질을 D-xylose로부터 생산할 수 있다.⁸⁾ 셋째, 곡류에서 얻어지는 전분질성의 탄수화물의 발효와는 달리, D-xylose는 목재나 농업 부산물에서 얻어지기 때문에, 식량 공급에 영향을 주지 않는다. 또한, 이용되지 않는 당은 미생물 biomass(SCP)의 생산을 통하여 동물 사료로 공급될 수 있다 (Fig. 1).

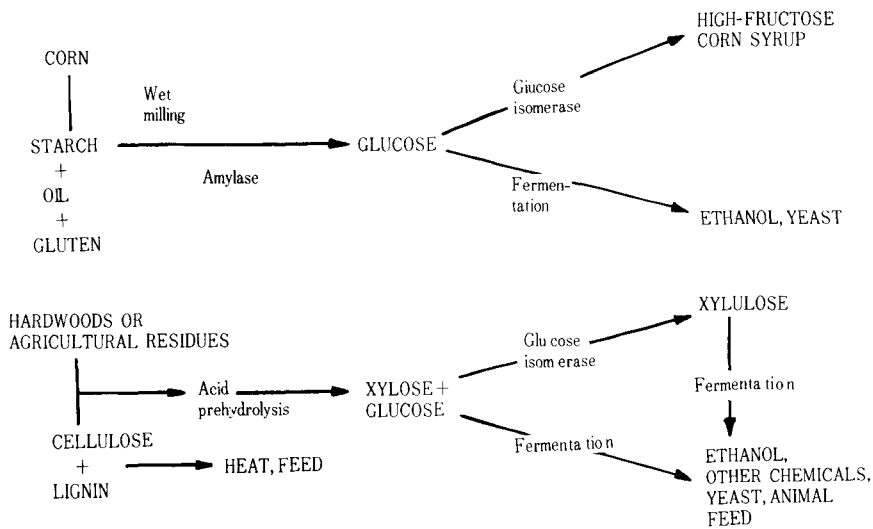


Fig. 1. Comparison of ethanol production from grain and lignocellulosic residues.

많은 재생 biomass는 cellulose만큼이나 많은 hemicellulose를 함유하고 있다. 이들 hemicellulose를 합리적으로 에탄올로 전환시킬 수 있다면, 재생 biomass의 응용면에서 많은 경제적 이익을 기대할 수 있다. Hemicellulose의 주성분은 D-xylose이다. 최근까지 D-Xylose의 용도는 감미료와 향당노제의 생산에 사용되는 xylitol의 생산 원료나 furfural의 생산 원료로서 사용되어 왔으나, 상기에 기술한 요인에 의해 효모에 의한 에탄올의 발효 기질로서 가치가 높아지고 있다.⁹⁾

에탄올은 상업적으로 화학 합성과 미생물에 의한 발효에 의해 생산되고 있다. 현재에 모든 공업용 에탄올은 석유나 천연가스로부터 화학 합성에 의해 제조되고 있으나, 모든 음료용 에탄올은 곡류, 당밀, 전분질의 발효에 의해 생산된다. 공업용 에탄올 생산의 또 다른 중요한 원료는 농업이나 농업 관련산업에서 얻어지는 부산물에 존재하는 탄수화물이다.

본고에서는 pentoses대사와 D-xylose발효에 관련하여, hemicellulose성 탄수화물(특히 D-xylose)의 이용성, pentose대사 및 효모나 세균에 의한 D-xylose로부터 에탄올 생산에 관하여 기술한다.

II. Hemicellulose의 이용성

1. Hemicellulose의 구조와 조성

Hemicellulose는 glucose, galactose, mannose, xylose, arabinose, uronic acids등의 중합체이며, 구성 성분에 따라 D-glucan, D-mannan, D-Xylan, L-arabinan등으로 분류한다. 그러나, 이들은 보통 균일한 glycans로 존재하는 것이 아니라, 다양한 당을 함유하는 heteroglycans로 존재한다. 흔히 발견되는hemicelluloses의 구조는 Fig. 2와 같다.¹⁰⁾ Hemicellulose는 주로 식물체의 세포벽(중간 lamella)층에 분포되어 있으며, cellulose와 lignin에 결합되어 있다.

Hemicellulose의 형태나 양은 식물체, 조직의 형태, 생육 상태, 생육 환경, 생리적 조건, 저장, 추출방법등에 따라 매우 다양하기 때문에, hemicellulose의 전형적인 당조성비를 얻기는 어렵다.¹¹⁾ 가장 풍부하게 존재하는 hemicellulose의 형태는 D-xylose골격에 측쇄로서 L-arabinose를 갖는 것이다.¹²⁾ 식물체나 이들의 산물에 있어서 hemicellulose의 함량은 Table 1과 같다.¹³⁾

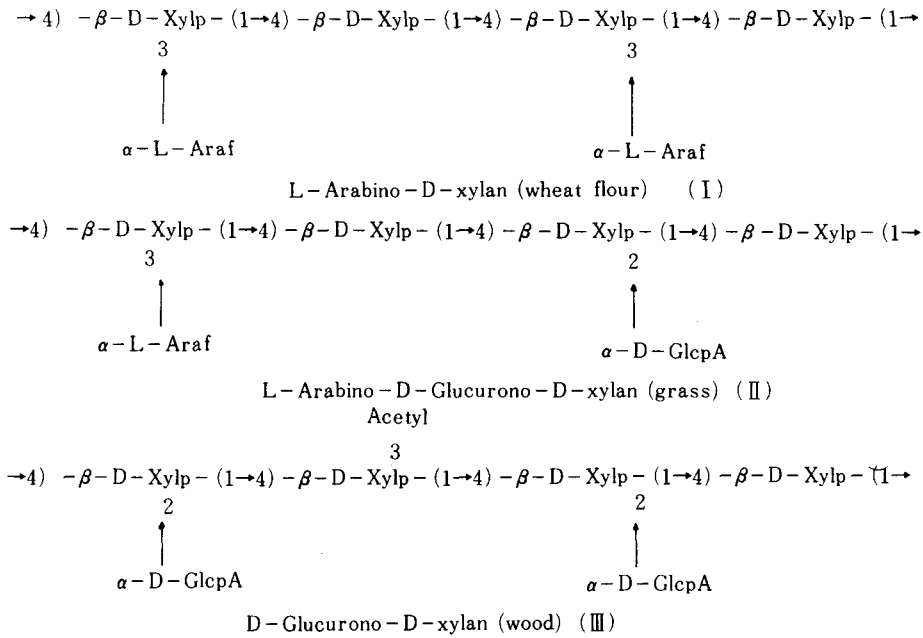


Fig. 2. Structure of some commonly occurring hemicelluloses.¹⁰ Araf = arabinofuranose, Xylp = Xylopyranoside, Glcp A = glucopyranosyluronicide.

Table 1. Biomass constituents¹³.

Type of material	Hemicellulose %	Cellulose %	Lignins %
Monocotyledons			
Stems	25~50	25~40	10~30
Leaves	80~85	15~20	-
Fibers	5~20	80~95	-
Woods			
Hardwood (angiosperms)	25~40	40~55	18~25
Softwood (gymnosperms)	25~35	45~50	25~35
Papers			
Newspaper	25~40	40~55	18~30
Wastepaper	10~20	60~70	5~10
Waste fibers	20~30	60~80	2~10

일년생 식물이나 낙엽수에 있어서는 xylan이 hemicellulose의 가장 큰 비중을 차지하나, 식물체에 따라 차이가 있다. 일반적으로 활엽수의 xy-

lan함량(11~25%)은 침엽수(3~8%)의 경우보다 높다.¹⁴⁾ 농업 부산물의 지배적인 탄수화물은 D-xylose이며, 옥수수 부산물의 xylan함량은 17~31%이다. 농업 부산물의 hemicellulose성 탄수화물의 함량비는 Table 2와 같다.¹⁵⁾

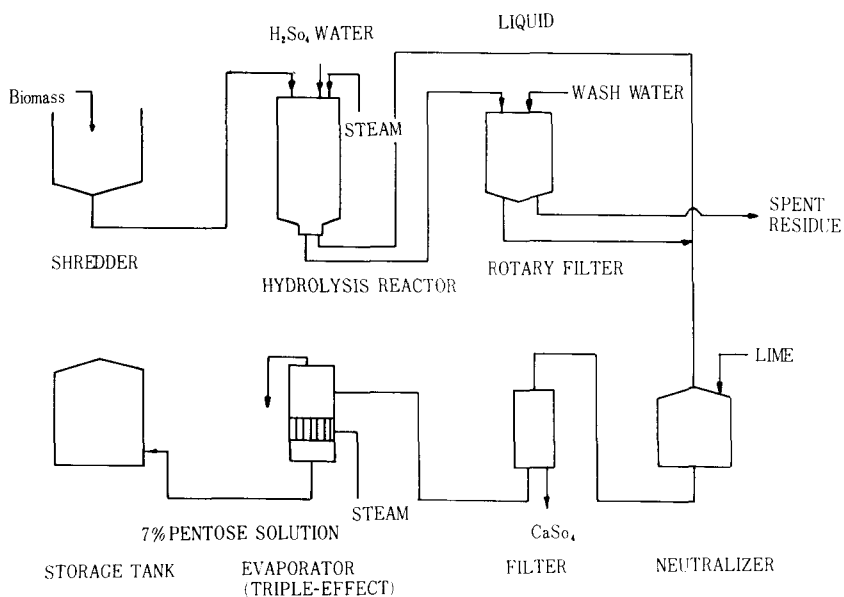
2. Hemicellulose의 가수분해

Hemicellulose는 cellulose와는 달리 비교적 성긴 구조를 가지며, 이같은 분자구조는 중합체내에 산의 확산을 용이하게 하여 가수분해를 촉진한다. Acetyl기는 가수분해에 의해 쉽게 이탈되며, 이때 생겨나는 acetic acid는 hemicellulose의 분해를 촉진한다.

일반적으로 hemicellulose 탄수화물은 묽은 산에 의한 선택적 가수분해에 의해 고수율로 회수될 수 있다.¹⁶⁾ 묽은 황산에 의한 hardwood residues의 가수분해 공정은 일반적으로 Fig. 3과 같다.¹⁷⁾ 떡갈나무(*Quercus falcota*)의 경우에 묽은 황산 가수분해 공정에 의해 80%이상의 D-xylose가

Table 2. Hemicellulose neutral carbohydrate content of agricultural residues¹⁵

Plant residues	% of total sugars			
	Xylose	Arabinose	Glucose	Mannose & Galactose
Corn residues				
Cobs	65.1	9.6	25.3	—
Leaves	59	9.4	29.1	2.5
Stalks	70.5	9.0	14.5	5.9
Husks	53.5	12.3	32.6	1.6
Pith	71.5	9.8	15.7	3
Fibers	63.8	6.6	26.8	2.8
Wheat straw	57.9	9.1	28.1	5
Soybean				
Stalks and leaves	59.9	6.6	6.1	27.4
Hulls	26.6	12.7	21.	39.7
Sunflower				
Stalks	60.6	2.2	32.5	4.6
Pith	10.7	11.8	63.2	14
Flax straw	64.6	12.8	1.2	21.4
Sweet clover hays	49.3	21.9	8.6	9.9
Peanut hulls	46.3	5	46.6	2.1
Sugar cane bagasse	59.5	14.5	26	—

Fig. 3. Simplified flow diagram – pentose production from hardwood residue¹⁷.

회수되고 있으며, 옥수수 부산물의 경우에는 0.8N 1.2%의 묽은 황산 가수분해(100°C, 30분)에 hemicellulose 탄수화물의 90% 이상이 회수된다.¹⁶⁾ 각 경우에 있어서 cellulose성 잔여물은 보다 강력한 분해공정에 의해 D-glucose로 분해되나 수율은 매우 낮다.

산 가수분해의 주요 단점은 D-xylose와 D-glucose로부터 상당량의 furfural과 hydroxymethylfurfural이 생성되는 점이다. 이들 산물은 일반적으로 미생물에 독성을 나타낸다.¹⁸⁾

농업이나 농업 관련산업에서 부산물로 얻어지는 biomass는 Table 3와 같다.¹⁹⁾ 선택적 산 가수분해에 의해 hemicellulose성 탄수화물을 회수하고, 이들 당(주로 D-xylose)을 에탄올로 전환시키는 일은 대체 에너지 개발과 biomass의 응용면에서 중요한 일익을 담당할 수 있다.

Table 3. Some potential agricultural and agro-industrial cellulosic residues¹⁹⁾

	By-products
Crop	Rice straw, wheat straw, maize stalk, castor stem, tapioca stem, banana stem, coconut stem, cotton stick, corn cobs, bamboo dust
Agro-industrial	
Rice-milling industry	Rice husk, rice bran
Sugar industry	Bagasse, molasses, pressmud
Cotton ginning industry	Cotton linters, cotton seed hull, cotton gin waste
Jute industry	Jute sticks, jute mill waste
Sawmill industry	Sawdust
Coconut industry	Coconut husk, shell and pith

III. D-xylose의 대사

미생물에 의한 에탄올 생산에 있어서 D-xylose는 D-glucose처럼 쉽게 이용되지 않는다. D-xy-

lose와 D-glucose대사에 이용되는 생화학적 대사 경로가 다르기 때문이다. D-xylose는 pentose phosphate pathway(PPP)를 통하여 대사된다. 세포내로 흡수된 D-xylose는 이성화 반응 또는 환원-산화 반응을 거쳐 D-xylulose로 전환된다. D-Xylulose는 인산화 반응을 통해 D-xylulose-5-phosphate로 전환된다. PPP경로는 EMP경로와 상호 연결되어 있으며, 이 D-xylulose-5-phosphate는 phosphoketolase에 의해 glyceraldehyde-3-phosphate로 분해되어 EMP경로를 통해 에탄올로 전환된다.

원시핵 미생물과 진핵 미생물은 pentose 대사의 초기 단계에서 서로 다른 경로(Fig. 4)를 통하여 D-xylulose-5-phosphate로 전환되는 것으로 알려져 있으며,^{20,21)} D-xylose의 흡수와 D-xylulose-5-phosphate로의 인산화 반응이 D-xylose대사에 있어서 전반적인 속도 제한 단계가 된다.

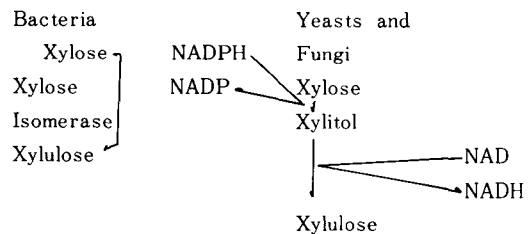


Fig. 4. Yeasts and bacteria generally employ different pathways for D-xylose assimilation.

1. 세균에 있어서의 D-xylose대사와 흡수

많은 세균들이 탄소원과 에너지원으로 D-xylose를 이용한다. 대부분의 세균에서는 D-xylose로부터 D-xylulose로의 이성화 반응이 D-xylose 대사의 첫 단계에서 일어난다. 그러나, *Enterobacter* sp. 나 *Corynebacterium* sp.의 세균들은 D-xylose 대사의 첫 단계에서 환원-산화반응을 통하여 D-xylose를 xylitol로 전환한다.^{22,23)} D-Xylose

의 환원에 필요한 NADPH는 NADPH의존성 5-phosphogluconate dehydrogenase에 의한 6-phosphogluconate의 산화에 의하여 생겨난다.²²⁾ 다른 세균에 있어서는 pentose의 직접적인 인산화 반응이 첫 단계가 된다. 예로서 D-ribose는 D-

ribose-5-phosphate로 직접 인산화되고, 다시 D-ribulose-5-phosphate로 이성화된다.²⁴⁾ 세균은 일반적으로 pentose대사를 통해 Key intermediate인 D-xylulose-5-phosphate를 만든다. Pentoses대사의 초기 단계는 Fig. 5와 같다.²⁵⁾

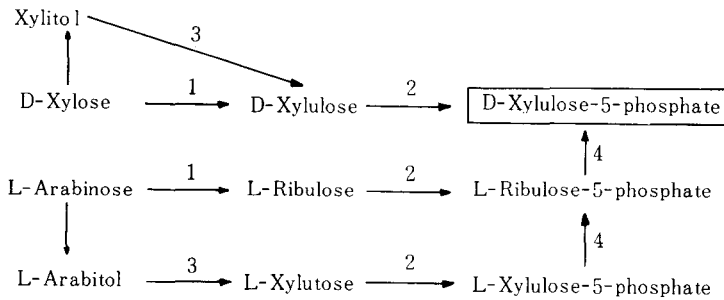


Fig. 5. D-Xylose and L-arabinose metabolism by bacteria²⁵.

- 1, pentose isomerase. 2, pentulokinase.
3, pentitol dehydrogenase, and 4, epimerases

일반적으로 세균에 있어서 D-xylose의 흡수는 능동적 운반에 의해 일어난다. 대장균의 경우에 원형질막을 통한 D-xylose흡수는 proton(H⁺)의 이동과 관계가 있다. 이는 기아 상태의 균체 현탁액에 D-xylose를 첨가하면 배지의 pH가 증가되는 현상으로 증명된다.²⁶⁾ 또한, 대장균에 있어서 [¹⁴C] D-xylose의 축적은 tetrachlorosalicylamide (TCS), 2,4-dinitrophenol(DNP), carbonylcyanide m-chloropheylhydrazine과 같이 H⁺ gradient를 파괴하는 uncoupling agents에 의해서 저해되지만, NaF나 arsenate와 같이 세포내의 ATP농도를 감소시키거나 PEP형성을 방해하는 물질에 의해서 D-xylose흡수는 저해받지 않는다. 이 사실은 D-xylose흡수가 chemiosmic mechanism에 의해 일어남을 의미한다. *Staphylococcus xylosus*나 *S. saprophyticus*의 경우에 D-xylose 흡수는 PEP-phosphotransferase계와 관계없이 일어나나, *Lactobacillus casei*에 있어서는 기질 특이적 PEP-phosphotransferase계에 의해 흡수된다.

대장균의 D-xylose 흡수는 비교적 특이적이나,

*Salmonella typhimurium*의 경우는 특이성이 낮다. 즉, L-arabinose에서 생육된 균체에서 D-xylose가 쉽게 축적되며, 그 반대의 경우도 일어난다. D-Xylose의 흡수는 xylitol과 L-arabinose에 의해 경쟁되지만, D-arabinose, D-lyxose, L-lyxose와는 경쟁하지 않는다.²⁷⁾

2. 효모에 있어서의 D-xylose 대사와 흡수

효모나 곰팡이는 환원-산화반응은 통하여 D-xylose를 대사한다.²¹⁾ 효모의 경우에 D-xylose는 NADPH₂-dependent aldoreductase에 의해 xylitol로 환원되며, xylitol은 NAD-dependent D-xylulose reductase에 의해 D-xylulose로 전환된다.²⁸⁾ 또한, D-xylulose는 D-xylulose-5-phosphate로 인산화되며, PPP경로와 EMP경로를 통하여 Pyruvate로 전환된다. D-Xylose환원에 요구되는 초기 NADPH₂는 비축된 탄수화물의 대사에 의해 제공되는 것으로 여겨진다. NADPH₂는 PPP경로에서 glucose-6-phosphate의 D-ribulose-5-phosphate

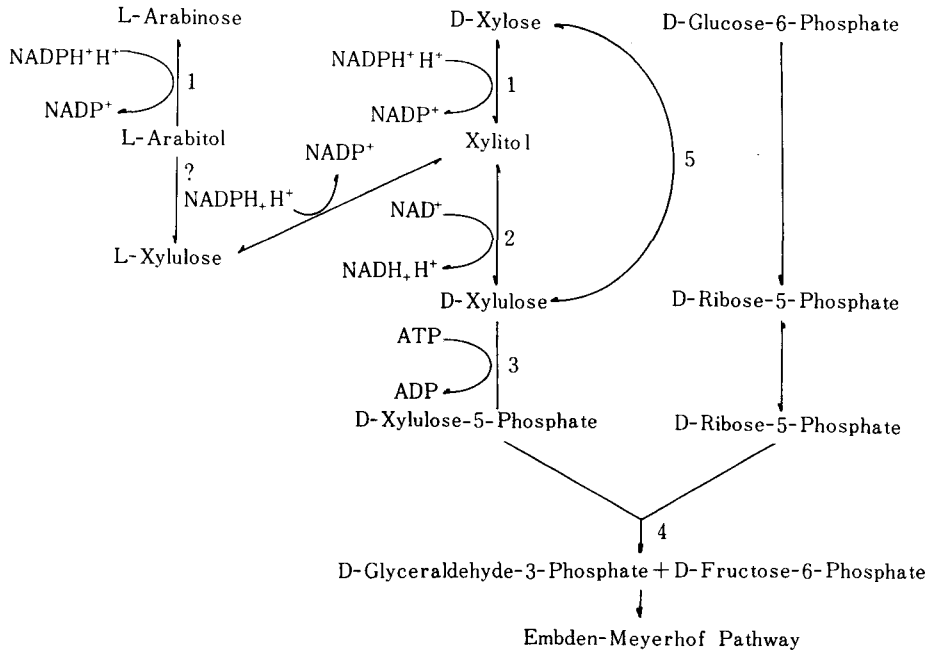


Fig. 6. D-Xylose and L-arabinose metabolism by yeasts. 1. aldoreductase; 2. D-xylose reductase; 3. D-xylose kinase; 4. transaldolase and transketolase; and 5. D-xylose isomerase

로의 산화에 의해 재생된다(Fig. 6). D-Fructose-6-phosphate는 D-glucose-6-phosphate와 신속히 평형을 이루기 때문에 D-xylose의 산화-환원반응은 궁극적으로 그 자신의 반응으로부터 NADPH₂를 공급하게 된다.²⁹⁾ 또한, 효모는 L-arabinose를 대사하여 PPP경로의 Key intermediate인 D-xylulose-5-phosphate로 전환시킨다.

효모의 D-xylose 흡수는 촉진 확산 또는 능동적 운반에 의해 일어난다. *S. cerevisiae*는 D-xylose를 이용할 수 없지만, 촉진 확산에 의해 D-xylose를 흡수한다.³⁰⁾ D-xylose 흡수는 D-glucose 흡수와 관계한다. 왜냐하면, D-glucose 존재하에서 D-xylose나 L-arabinose의 흡수가 호기적 조건에서 보다 혐기적 조건에서 더 빠르기 때문이다. D-Glucose가 없을 시에는 어느 조건에서도 동일한 흡수가 일어난다.³⁰⁾

효모에 의한 D-xylose 흡수는 *Rhodotorula*에서

많이 연구되어 있으며, 능동적 운반에 의해 흡수가 일어난다.³¹⁾ 호기적 조건하에서 D-xylose 흡수는 2mM의 Km값을 가지면서 1000단위의 농도차에 대해서도 일어나지만, 혐적 조건에서는 흡수가 중단된다. 이는 호기성 효모의 D-xylose 흡수에는 산소 공급이 필수적임을 나타낸다.³⁰⁾

Alcorn 등³¹⁾은 *R. glutinis*의 D-xylose 흡수에 적어도 2종류의 carrier가 관여한다고 밝혔다. 낮은 Km값을 갖는 carrier는 급속한 생육 상태에 있는 효모에서는 억제되고 기아 상태에 의해 억제가 해제된다. Hexoses가 D-xylose흡수를 경쟁적으로 저해하지만, 낮은 Km값을 갖는 carrier는 보다 높은 특이성을 나타낸다.

보통 D-xylose와 D-galactose는 동일 운반계에 의해 흡수되지만, D-fructose 흡수는 다른 운반계에 의해 일어난다.³²⁾ D-xylose는 D-glucosamine 흡수를 경쟁적으로 저해하는데, 이는 이들 두

당에 동일 운반체가 있음을 나타낸다.³³⁾

*R. glutinis*에 의해 단당류나 polyols의 흡수는 H^+ 의 이동에 의해 추진된다. H^+ 매개 운반에 필수적인 막전위는 지용성 양이온의 세포내 축적에 의해 설명되며, pH 의존성이 매우 높다.³⁴⁾ Hoften 등³⁵⁾은 D-xylose의 세포내 농도가 외부의 pH에 의해 변화되고, 그 반대의 경우도 일어난다고 밝혔다. 이같은 가역성은 carrier 친화력이 외부 pH에 의해 가역적으로 변화됨을 의미한다. D-xylose 흡수와 H^+ 의 정량적 관계에서 흡수되는 D-xylose 한분자당 하나의 H^+ 가 사용된다.

3. D-Xylose로부터 D-xylulose-5-phosphate로의 전환

D-Xylose는 세포내에서 일단 D-xylulose로 전환되어 인산화된다. 세균은 일반적으로 isomerase를 이용하여 D-xylulose로 전환시키지만, 효모나 곰팡이는 2단계의 환원-산화반응을 통하여 D-xylulose로 전환시킨다.^{20,21)}

효모에 있어서 D-xylose로부터 D-xylulose로의 전환과정이 D-xylose 대사의 가장 중요한 단계이다. 대부분의 효모가 호기적으로 D-xylose를 이용하는 것으로 알려져 있으나, 현재까지 혐기적으로 D-xylose를 이용하여 생육하는 효모는 알려져 있지 않다.³⁶⁾ 반면에 D-xylulose를 혐기적으로 대사하여 에탄올을 생산하는 효모는 많다 (Table 4).³¹⁾ 대부분의 효모가 호기적으로 D-xylose를 이용한다는 사실은 D-xylulose로의 환원-산화전환이 산소에 의해 조절을 받으며, 이 조절이 호기적 대사에 관여한다는 것을 나타낸다. D-Xylose isomerase를 사용하는 세균들은 호기적 또는 혐기적으로 D-xylose를 이용하며 다양한 형태의 발효를 행한다.²⁰⁾

가. 이성화반응

D-Xylose isomerase는 가역적인 이성화반응(D-xylose=D-xylulose 또는 D-glucose=D-fructose)을 촉매한다.³⁷⁾ 평형상태에서 D-xylose isomera-

Table 4. Ethanol fermentation by yeasts^{3).}

Strain	Ethanol produced (% wt/vol)		
	D-Glucose ^b	D-Xylulose	D-Xylose ^d
<i>C. didensii</i> 20213	1.23	0.41	tr
<i>C. utilis</i> 9256	2.85	0.39	tr
<i>R. toruloides</i> 26194	0	0	0
<i>R. glutinis</i> var. <i>salivaria</i> 34295	0	0	0
<i>S. carlsbergensis</i> 26602	2.93	1.39	0
<i>S. cerevisiae</i> 24860	2.85	1.08	0
<i>S. diastaticus</i> 28338	2.89	0.69	tr
<i>S. fibuligera</i> 32693	0.15	0	tr
<i>T. candida</i> 20214	0.3	0.23	tr
<i>T. melibiosaceum</i> 28580	0.78	0	0
<i>S. cerevisiae</i> (yeast cake)	2.89	1.0	0
<i>S. cerevisiae</i> (RD)	2.96	0.77	0

se는 약 16%의 D-xylose를 D-xylulose로 전환시킨다.³⁸⁾ 이 값은 온도의 증가나 borate의 첨가에 의해 증가한다.³⁸⁾ 0.2M의 Borax 존재하에서 1M의 D-xylose는 최대 80%까지 D-xylulose로 전환된다.³⁸⁾ D-Xylose isomerase의 최적 pH와 온도는 균에 따라 차이가 있으나, 50~90°C와 pH 6.0~9.5의 범위에 있다. Isomerase의 활성화에는 보통 Co^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} 의 2가 양이온이 요구된다.³⁹⁾

*Klebsiella pneumoniae*의 D-xylose isomerase와 D-xylulokinase는 D-xylose에 의해 유도된다.⁴⁰⁾ *Staphylococcus*의 경우에는 D-xylose isomerase 활성을 저해하는 xylitol에 의해 D-xylose 대사가 저해된다.

*K. pneumoniae*의 경우, aldoses는 이성화에 의해, pentitols는 산화반응에 의해 각각 대응하는 pentuloses로 전환된다(Fig. 7).⁴¹⁾ D-Xylulose는 D-xylose, D-arabitol, D-lyxose, xylitol의 산물이며,

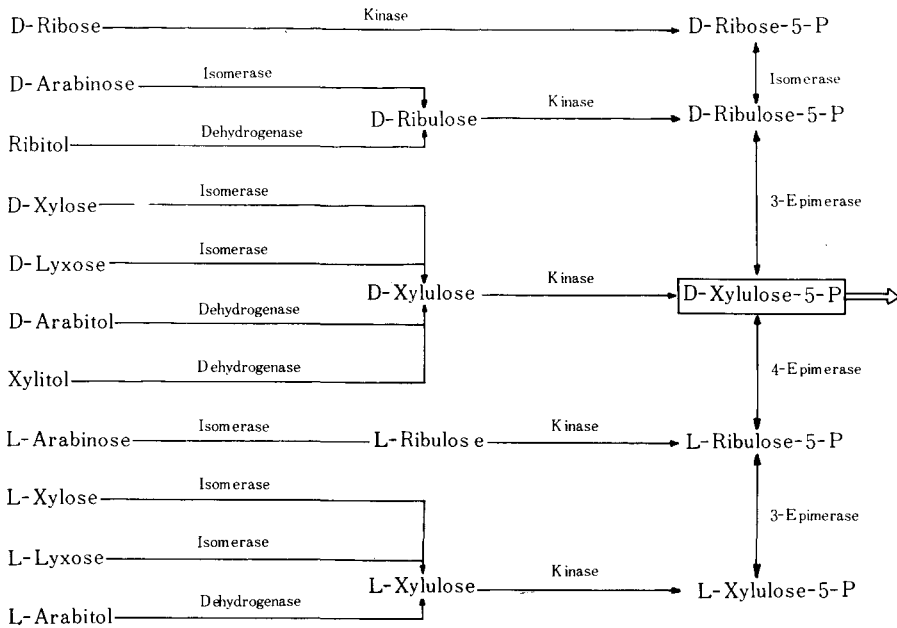


Fig. 7. Conversion of pentoses and pentitols to D-xylulose-5-phosphate⁴¹.

다른 pentoses나 pentitols는 D-또는 L-ribulose나 L-xylulose로 전환된다. 이들 pentuloses는 kinase에 의해 인산화되고, isomerase와 epimerase에 의해 D-xylulose-5-phosphate로 수렴한다.⁴¹⁾

D-Xylose isomerase는 *Candida utilis*²⁸⁾와 *R. glutinis*³⁶⁾에도 존재한다. *C. utilis*의 D-xylose isomerase는 D-xylose를 함유하는 배지에서 생육될 때 유도된다. 이 효소의 최적 pH는 6.5, 최적 온도는 70°C이며, 2가 양이온인 Mn^{2+} , Co^{2+} , Mg^{2+} 를 요구한다. *R. glutinis*의 경우에 D-xylose 대사를 위해 D-xylose isomerase의 유도가 꼭 필요하다.

나. 환원-산화반응

D-Xylose의 xylitol의 전환은 aldose reductase로 알려진 alditol:NADP 1-oxidoreductase에 의하여 촉매된다.⁴²⁾ 정제된 효소는 다양한 기질에 대해 활성을 나타내지만(Table 5), 특히 D-glycero 배위의 2번째 탄소에 OH기를 갖는 당에 대한 활성이

가장 높다.⁴³⁾ 효모나 곰팡이에 있어서 D-xylose 환원을 촉매하는 효소는 NADPH에 대한 특이성을 갖는다.²¹⁾

Xylitol의 D-xylulose로의 산화는 xylitol:NAD 2-oxidoreductase에 의해 촉매된다.²¹⁾ 이 반응은 가역적이고, NADH의 산화에 의해 D-xylulose, D-fructose, D-ribulose를 포함하는 많은 etulose가 형성된다(Table 6).⁴⁴⁻⁴⁷⁾

D-Xylose를 탄소원과 에너지원으로 이용할 수 있는 효모나 곰팡이는 D-xylulose의 환원-산화반응을 촉매할 수 있는 효소 활성을 나타낸다(Table 7).²¹⁾

Suzuki 등⁴⁸⁾은 *Pichia quercuum*에서 무세포 추출액에 의해 D-xylose로부터 xylonic acid와 xylitol이 동시에 생산된다는 사실을 발견하였다. D-Xylose dehydrogenase 활성은 NADP에 의존적이었고, D-xylose reductase 활성은 NADPH에 의존적이었다. 이들 효소는 NAD와 NADP의 재

Table 5. Substrate specificity of NADPH-polyol dehydrogenase from yeasts and mycelial fungi

Substrates	Relative activity (%) ^a			
	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida utilis</i>	<i>Melampsora lini</i>	<i>Penicillium chrysogenum</i>
D-Xylose	100	100	100	100
L-Xylose	5	0	—	0
D-Arabinose	13	0	—	0
L-Arabinose	76	216	118	25
D-Ribose	71	69	77	25
D-Lyxose	11	0	—	—
D-Glucose	36	27	14	—
D-Galactose	69	81	12	—
D-Mannose	5	0	10	—
D-Fructose	2	0	—	—

^a D-Xylose = 100%

Table 6. Substrate specificity of NAD-poylol dehydrogenase

Substrates	Relative activity (%) ^a			
	<i>Candida C albicans</i> ⁴⁴	<i>Candida utilis</i> ⁴⁵	<i>Candida utilis</i> ⁴⁶	<i>Pullularia pullulans</i> ⁴⁷
Xylitol	100	100	100	100
L-Arabitol	5	9.2	1	0
D-Arabitol	2	—	7	0
D-Ribitol	50	0	23	0
D-Mannitol	4	7.4	23	0
Sorbitol	72	44.4	87	0
Ervthritol	—	—	1	0

^a Xylitol = 100%

생을 통해 짝지어 진다.

일반적으로 세균은 xylitol 생산을 위한 xylose reductase⁴⁹와 pentitols 대사를 위한 NAD의존성 pentitol dehydrogenase를 모두 지니고 있다.²⁴⁾

다. 인산화반응

D-Xylulokinase는 D-xylulose에서 D-xylulose-5-phosphate로의 인산화반응을 촉매한다. 이 효소

는 Mitsuhashi 등⁵⁰⁾에 의해 처음으로 lactobacilli에서 밝혀졌다. Wilson 등⁴⁰⁾은 *Aerobacter aerogenes*에서 2개의 분리된 D-xylulokinase가 D-xylose나 D-arabitol에 의해 유도됨을 발견했다. 양 효소는 유사한 Km값과 기질 특이성을 갖는다. D-Arabitol에서 유도된 D-xylulokinase는 분자량 54,000의 subunit로 구성된 dimer로서 Km값은 0.8

Table 7. Specific activities of xylose reductase and xylitol dehydrogenase in mycelial fungi and yeasts²¹.

Organisms	Specific activities ^a	
	Xylose reductase	Xylitol dehydrogenase
<i>Mycelial Fungi</i>	0.32	
<i>Aspergillus fumigatus</i>	0.23	0.084
<i>Aspergillus ochraceus</i>	0.33	0.065
<i>Aspergillus oryzae</i>	0.65	1.41
<i>Aspergillus niger</i>	1.01	0.1
<i>Byssocladium fulva</i>	1.71	0.081
<i>Gliocladium roseum</i>	2.89	0.198
<i>Myrothecium verrucaria</i>	0.40	0.256
<i>Neurospora crassa</i>	2.32	0.079
<i>Penicillium chrysogenum</i>	2.33	0.217
<i>Penicillium citrinum</i>	2.34	0.261
<i>Penicillium expansum</i>	2	0.136
<i>Yeasts</i>		
<i>Rhodotorula glutinis</i>	1.02	0.071
<i>Torulopsis utilis</i>	1.39	0.112

^a Micromoles substrates reduced or oxidized per mg protein

mM, Vmax는 150 μ mol/min/mg protein 이었다.⁵¹⁾

효모에 있어서 D-xylulokinase의 존재는 많은 효모가 D-xylulose를 호기적 또는 혐기적으로 이용할 수 있는 능력에 의해 간접적으로 인지되고 있다.⁵²⁾ 따라서, D-xylulokinase는 constitutive enzyme로서 세포내에 존재하거나 또는 적당한 기질에 의해 매우 신속히 유도되는 효소임을 암시한다.

IV. 효모에 의한 D-xylose로부터 에탄올 생산

1981년 Schneider 등⁵³⁾이 효모인 *Pachysolen tannophilus*가 호기적 조건하에 D-xylose를 직접 에탄올로 전환할 수 있다는 보고가 있는 이후, 효모에 의한 에탄올 생산에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다. 최근까지 발표된 논문들 중에서 효모를 이용하여 D-xylose로부터 에탄올을 직접 생산한 연구의 결과를 Table 8에 비교·요약하여 보았다.

Table 8. Summary of D-xylose direct fermentation to ethanol (100% D-xylose utilization)

Microorganisms	Initial D-xylose concn. (g/l)	Maximum ethanol concn. (g/l)	Maximum ethanol yield coefficient (g/g)	% of theoretical ethanol yield	Fermentation time	Reference
<i>Aureobasidium pullulans</i>	20	4.2	0.21	41	72h	54
<i>Candida</i> sp. XE217 XF	50	21.0	0.42	82	60h	55
<i>Candida shehatae</i> CSIR-Y492	90	26.2	0.27	57	40h	56
<i>Candida tropicalis</i> ATCC1369	75	8.3	0.11	22	144h	5
<i>Clavispora</i> sp. 83-877-1	20	5.9	0.29	57	80h	58
<i>Kluyveromyces marxianus</i> SUB-80-S	20	5.6	0.28	55	48h	59
<i>Kluyveromyces cellobiavorus</i> KY5199	100	30.0	0.31	61	*	60
<i>Pachysolen tannophilus</i>	100	13.0	0.22	44	106h	61
<i>Pachysolen tannophilus</i> NRRL Y-2460	50	15.0	0.30	60	130h	62
<i>Pichia stipitis</i> NRRL Y-7124	75	30.0	0.25	49	120h	63

Theoretical yeild was assumed to be 0.51 g of ethanol per g of D-xylose

일반적으로 효모에 의한 D-xylose로부터 에탄올을 생산에는 negative pasteur effect⁶⁴⁾나 Kluver effect⁶⁵⁾에 의한 D-xylose 대사 조절이 이뤄지고 있다.

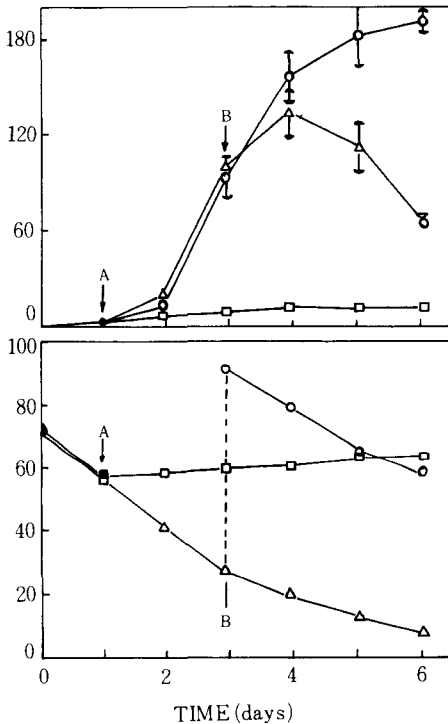


Fig. 8. Ethanol production by *Candida tropicalis* ATCC 1369 under aerobic conditions⁵⁷. Cells were grown in 33ml yeast nitrogen base (Difco) plus 7.5% D-xylose (YNX-7.5%) at 28°C with shaking at 200rpm; initial cell growth was rapid and preceded the appearance of ethanol.

After 1d (A), some cultures were switched to anaerobic conditions by replacing cotton plugs with rubber stoppers and flushing with nitrogen (□-□). After 3d (B), other cultures were supplemented with additional xylose (○-○). Control cultures (△-△) were maintained under original conditions. Brackets show standard deviations obtained in triplicate flasks.

혐기적 상태로 변환시키면, D-xylose의 소비와 에탄올 발효가 중단된다. D-xylose 대사에 산소가 필수적이다. 이와 같은 negative pasteur effect는 *Brettanomyces* 속, *Pachysolen* 속, *Pichia* 속, *Endomycopsis* 속, *Kluveromyces* 속에서 공통적으로 관찰되고 있다.^{59,62-64)} 이들 현상은 Du Preez 등⁵⁶⁾이 *Candida shehatae*을 이용한 ethanol 발효시에도 관찰되고 있다. Table 9와 같이 산소 공급의 속도가 모든 발효 parameters에 상당한 영향을 미치고 있다. 최대 비증식 속도는 호기적 조건에서 가장 높으나, 에탄올 수율은 산소 제한조건에서 훨씬 높다.

Delgenes 등⁶⁶⁾도 통기조건을 달리하면서 *P.*

*Jeffries*⁵⁾는 *Candida tropicalis*를 이용하여 호기적 조건에서 에탄올 발효를 수행하면서 D-xylose 대사에 미치는 산소의 영향을 검토하였다. Fig. 8에서 에탄올 발효조건을 호기적 상태에서

tannophilus, *Kluveromyces marxianus*, *C. stipitis*, *C. shehatae*를 이용하여 D-Xylose 발효능을 비교하였다. 0.02VVM의 통기하에서 *C. shehatae*만이 에탄올을 생산할 수 없었으며, 나머지 균주는 제한된 산소 공급이 에탄올 생산속도를 촉진하였다. 발효후, 계속적인 균체 증식에 의해 에탄올이 자화되었다. *P. stipitis*와 *P. tannophilus*만이 혐기적 조건에서 D-Xylose를 이용하였다. 이와 같이 산소는 에탄올 생산에 다양한 영향을 준다. Cofactor 재생산에도 영향을 주고, 생산된 에탄올의 소비를 촉진하는 부정적 효과도 있다.

Table 9. Effect of the rate of oxygen supply on the kinetic paramets of *Candida shehatae* CSIR-Y492. The maximum values are given⁵⁶.

KINETIC PARAMETER	CULTIVATION CONDITIONS		
	Oxygen-limited	Semi-aerobic	Aerobic
μ_{max} , h^{-1}	0.25	0.31	0.38
q_p , h^{-1}	0.28	0.26	0.1
Q_p , $g(\ell h)^{-1}$	1.31	2.24	2.35
$Y_{p/s}$	0.29	0.2	0.11
$Y_{x/s}$	0.1	0.27	0.33

*P. tannophilus*⁵⁷는 *C. tropicalis*와는 달리 엄밀한 혐기 조건하에서 D-xylose로부터 에탄올과 acetic acid를 생산한다.(Fig. 9). 이는 phosphoke-

tolase경로가 *P. tannophilus*에 존재함을 의미한다. 통기가 에탄올 생산에 요구되지 않을지라도 낮은 통기속도가 에탄올 생산을 촉진한다.

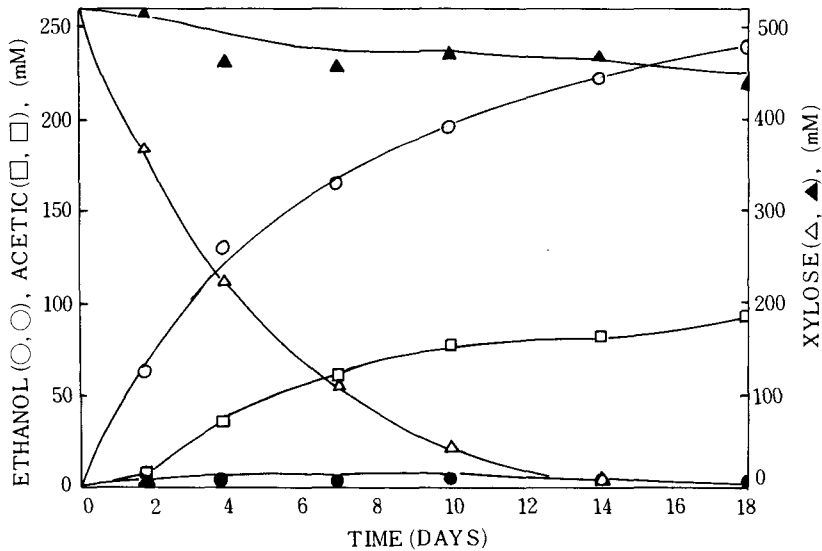


Fig. 9. Comparison of *Pachysolen tannophilus* NRRL Y-2460 and *Candida tropicalis* ATCC 1369 for ethanol production under anaerobic conditions. Cells of both organisms were grown in 33ml of YNX-7.5% with agitation at 150rpm for 3d harvested by centrifugation and inoculated to 33ml of the same medium in a 50ml serum vial. Vials were sealed with thick butyl rubber bungs (Belco) and sparged with N_2 . Inoculum per vial: *P. tannophilus* = 0.17mg dry weight (open symbols), *C. tropicalis* = 0.07mg dry weight (closed symbols)⁵⁷.

D-Xylose대사에 있어서 산소공급이 요구되는 생화학적 및 생리학적 근거는 아직도 불분명하지만, D-xylose 흡수, D-xylose의 산화-환원반응 경로, 산화학적 인산화를 통한 APT의 생산, 보조효소의 재생이 고려될 수 있다. 결국, 호기적으로 D-xylose를 에탄올로 전환시키기 위해서는 산소에 의해 억제되지 않는 활발한 EMP경로와 PPP 경로를 균주가 지닐 필요가 있다.

V. 세균에 의한 D-xylose로부터 에탄올 생산

대부분의 효모가 D-xylose를 혐기적으로 이용할 수 없지만, 많은 세균들은 혐기적으로 D-xylose를 다양한 산물로 쉽게 전환한다. 세균에 의한 D-xylose발효 산물을 균주와 배양 조건에 따라 차이가 있지만, 알코올류(butanol, ethanol, isopropanol, 2,3-butanediol), 유기산류(acetic, butyric, formic, lactic acid), acetone, polyols (arabitol, glycerol, xylitol), 가스류(CH_4 , CO_2 , H_2) 등이 생산된다.

세균의 중요한 대사적 특징의 하나는 에탄올이 acetaldehyde의 전구체인 acetyl-CoA로부터 생성되는 것이다.⁶⁷⁾ 대부분의 세균은 D-xylulose-5-

phosphate를 pyruvate로 전환시키기 위하여 EMP 경로와 PPP경로를 이용한다. Lactic acid bacteria의 경우는 D-xylulose-5-phosphate를 acetyl-P와 glyceraldehyde-3-P로 분해하는 phosphoketolase 경로를 이용하며, 에탄올은 acetyl-P에서 생산된다.⁶⁸⁾

에탄올을 생산하는 세균은 이용되는 대사경로에 따라 여러 그룹으로 나누어 질 수 있다.

1. Ethanol-Mixed Acids-Butanediol 발효

혼합산 발효의 주요 산물은 에탄올, acetic, lactic, succinic, formic acids이다. 산물의 상대량은 균주, 기질, 배양 조건에 따라 다르다. 대부분의 혼합산 발효 세균은 EMP경로를 통하여 Pyruvate을 산물로 전환한다. 혼합산 생산에 관여하는 효소는 acetate kinase, Pyruvate dehydrogenase, lactate dehydrogenase, acetaldehyde dehydrogenase, ethanol dehydrogenase이다.

Butanediol 발효는 많은 장내 세균에 의해 일어나며, 발효산물은 에탄올, butanediol 및 유기산이다.⁶⁹⁾ Pentoses를 유기산으로 전환하기 위해서는 PPP경로와 EMP경로를 이용한다. Fig. 10은 Mixed Acids-Butanediol 발효의 전형적인 산물과

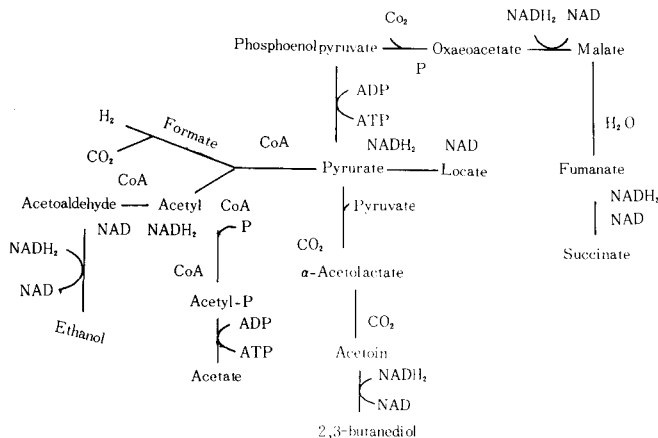


Fig. 10. Pathways for the formation of products of the mixed acid and 2,3butanediol fermentations⁷⁰.

생화학적 대사경로를 보여준다⁷⁰⁾

D-Xylose나 L-anabinose는 butanediol 생산에 훌륭한 기질이 된다. *Aeromonas hydrophila*⁷¹⁾는 D-xylose로부터 에탄올과 2,3-butanediol을 생산한다. pH는 산물의 조성에 큰 영향을 준다(Fig. 11) 낮은 pH에서는 에탄올과 2,3-butanediol생산이 유리하며, 높은 pH조건에서는 butanediol 생산의 첫 단계 효소인 L-acetoacetate synthase의 활성이 저해되어 2,3-butanediol의 축적은 일어나지 않는다. 이때의 에탄올 수율은 어느 조건에서 비슷하며, 50g의 D-xylose에서 15g의 에탄올이 생산된다.

*Klebsiella pneumoniae*를 사용하여 hemicellulose 가수분해물로부터 2,3-butanediol을 생산하는 방법도 많이 개발되어 있다.⁷²⁾

2. Acetone-butanol-ethanol발효

일반적인 대사경로는 Fig 12와 같다.⁷⁰⁾ Acetyl-CoA는 에탄올의 전구체이다. pH가 산물의 형태에 영향을 준다. 낮은 pH조건은 solvents 생산에 유리하며, 높은 pH조건은 유기산 생산에 유리하다.⁷³⁾ 또한 산물의 조성은 생육상태에 의해 영향을 받는다. 대수 증식기에는 유기산 생산이 지배적이며, 정체기에서는 solvents 생산이 유리하다.⁷⁴⁾

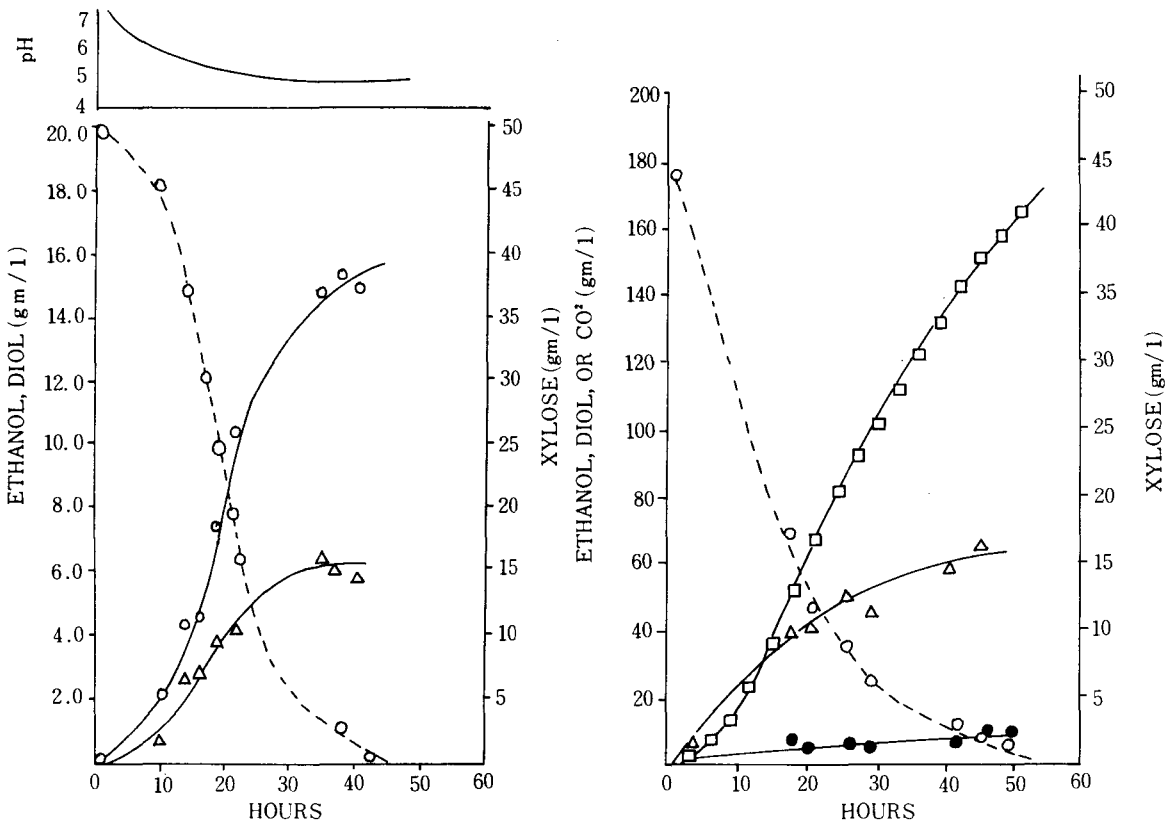


Fig. 11. Anaerobic production (A) of (●) 2,3-butanediol and (△) ethanol and a high pH fermentation (B) of (○) D-xylose by *Aeromonas hydrophila*⁷¹⁾.

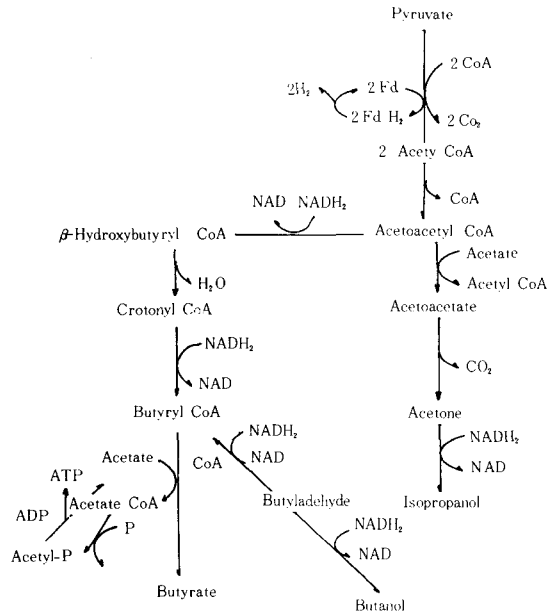


Fig. 12. Pathways for the formation of acetone, butanol, butyric acid and isopropanol from pyruvate⁷⁰.

C. *acetobutylicum*의 경우에 D-xylose로부터 6 : 3 : 1의 몰비로 butanol, acetone, ethanol이 생산되고 있다.⁷⁵⁾ Biomass 탄수화물이 기질로서 사용되고 있다.

3. Acetone-ethanol발효

*Bacillus macerans*⁷⁶⁾는 D-Xylose를 분해하며 에탄올, acetone, acetic acid를 생산한다 (Fig. 13). 에탄올과 acetate는 acetyl-CoA에서 형성되고, acetone은 acetoacetate CoA로부터 생성된다. 낮은 pH는 acetone과 에탄올 생산에 유리하고, 높은 pH는 acetate 생산에 유리하다.⁷⁷⁾ 최대 비증식 속도는 0.15h^{-1} 이었고 $20\text{g}/\ell$ 의 D-Xylose로부터 $5.6\text{g}/\ell$ 의 에탄올이 생산되었다.

VI. Hemicellulose hydroly sates로부터 에탄올 생산

Hemicellulose의 산 가수분해물은 D-xylose나

D-glucose로부터 형성되는 furfural 및 hydroxymethylfurfural을 함유한다. 이들 산물은 일반적으로 효모에 대해 독성을 나타내기 때문에 미생물이 이용하기에는 순수한 당류보다 어려운 점이 있다. 이같은 단점은 이온교환 수지의 이용이나 활성탄 처리등의 방법으로 가수분해물을 순화시킴으로서 어느 정도 개선할 수 있다.¹⁸⁾

Gong 등⁷⁸⁾은 *Candida* sp. XF217을 이용하여 목재 칩의 산 가수분해물(D-xylose 4.4%, L-arabinose 0.5%, D-glucose 0.4%, w/v)을 에탄올로 전환하였다 (Fig. 14). D-xylose의 에탄올 전환은 혐기적 조건에서 보다 호기적 조건에서 더 빠르게 진행되었고, 혐기적 조건에서 glucose isomerase를 첨가하면 호기적 조건에서와 같은 효과를 얻을 수 있었다. 이는 혐기적 조건에서 D-xylulose가 D-xylose보다 더 빨리 이용된다는 일반적인 결과와 잘 일치되는 것이다. 상기의 조건에서 에탄올의 생산량은 $20\text{g}/\ell$ 이었고, 이론값의 약 90%에 이른다.

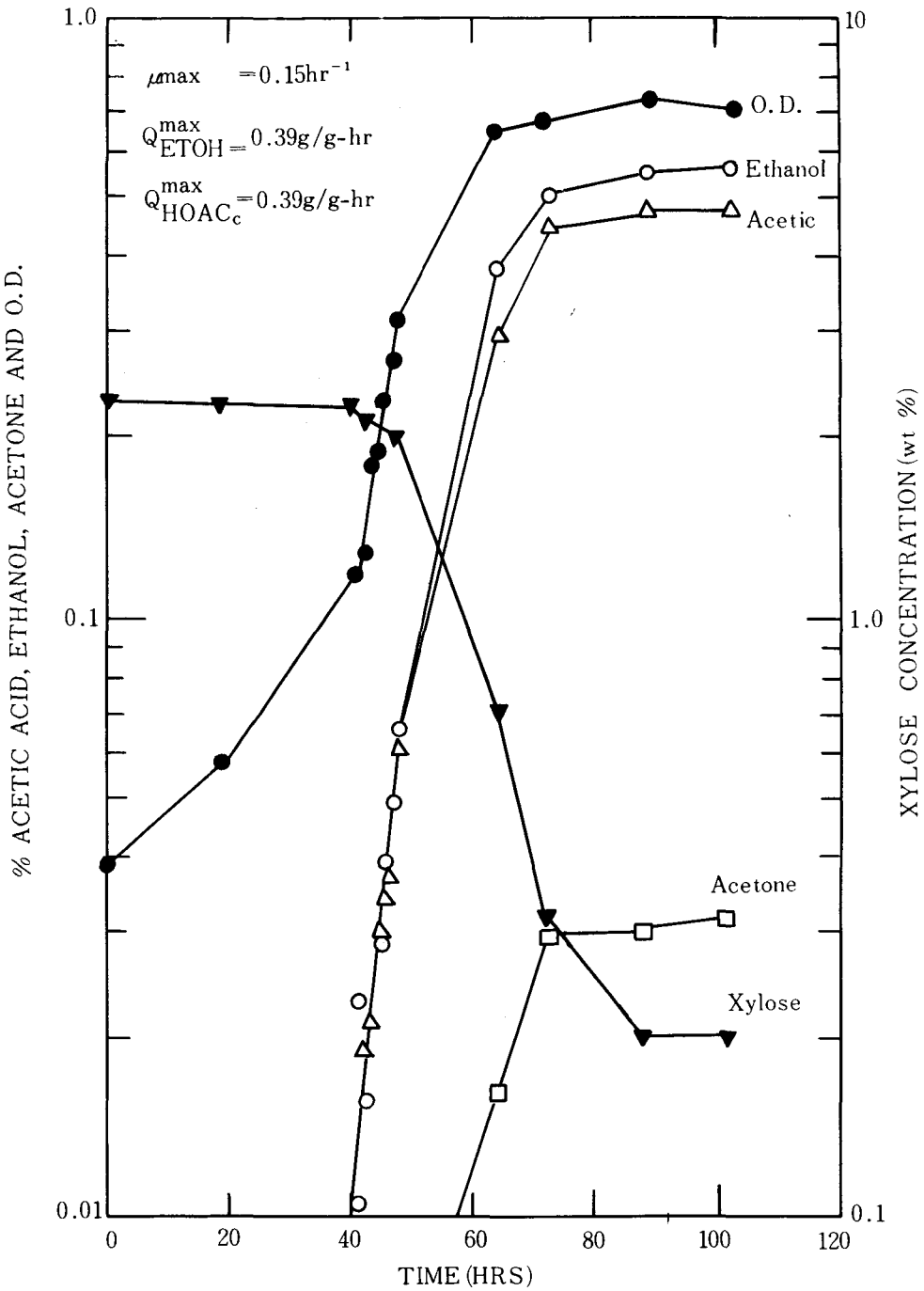


Fig. 13. *Bacillus mascerans* Growth on Xylose⁷⁶.

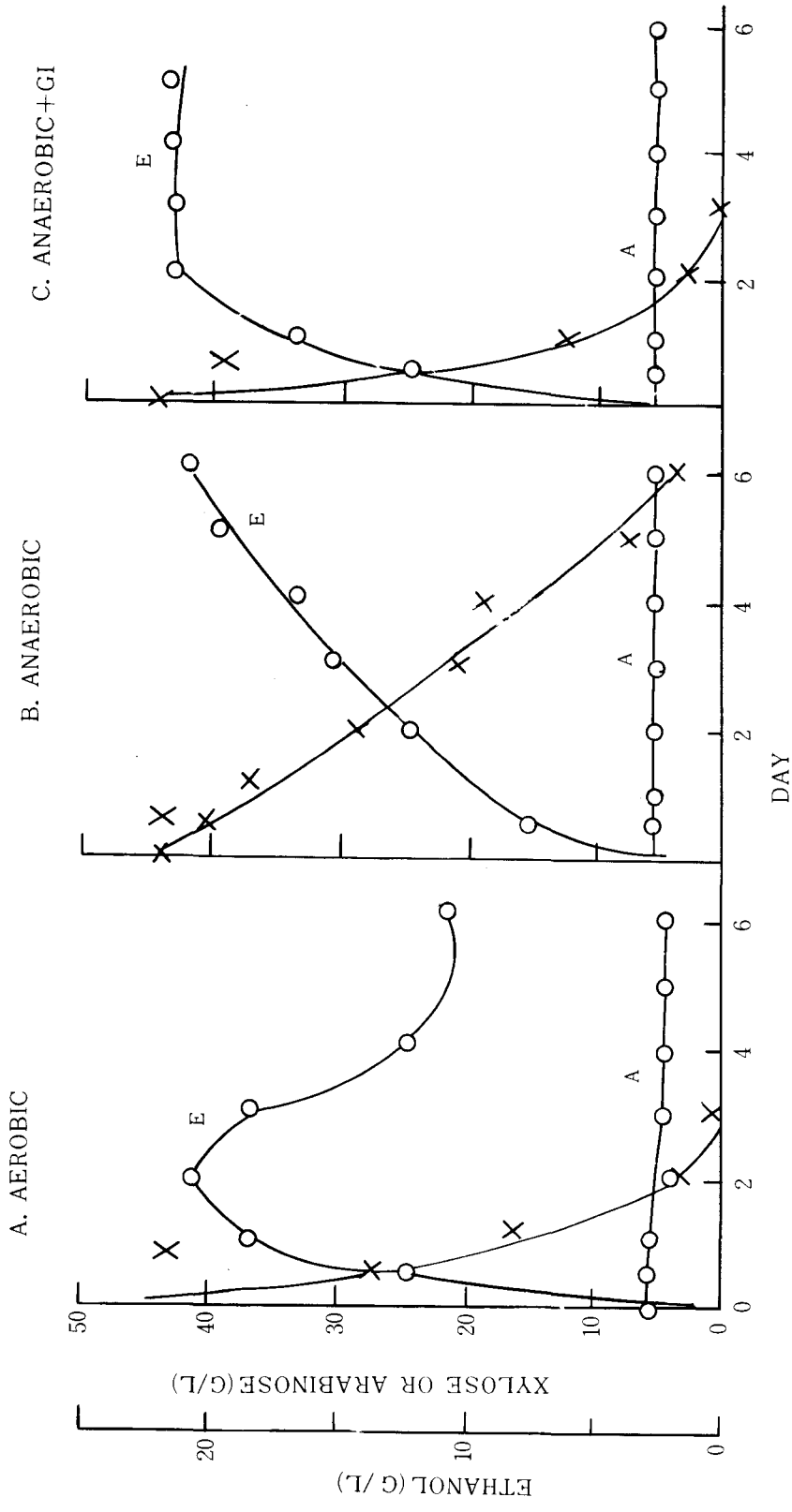


Fig. 14. Production of ethanol from wood chips hemicellulose hydrolysate by *Candida* sp. XF217. A, aerobic, B, anaerobic, C, anaerobic with glucose isomerase. (X); D-Xylose, (●); ethanol, (○); L-arabinose⁷⁸.

Deverell⁷⁹⁾은 *Pachysolen tannophilus*를 이용하여 사시나무(Aspen)의 산 가수분해물(D-glucose 57.4%, D-xylose 27.3%, D-mannose 9.1% L-arabiose 4.5%, D-galactose 1.7%)을 에탄올로 전환하였다(그림 15). 에탄올 이외에 부산물로 acetic acid와 xylitol이 생산된다. 35시간 배양 후, 16.5g의 소비당으로부터 7.1g/l의 에탄올이 생산되었으며, 이론값의 84%이었다. 이 값은 재래의 효모에 의해 얻을 수 있는 값보다 25% 이상 상회하는 것이었다.

Veng 등⁸⁰⁾은 *Mucor sp.* 105을 이용하여 hemicellulose hydrolysate(4.4% D-xylose 1.4% D-glucose, 0.9% L-anabinose)로부터 2-5일에 2%(w/v) 에탄올과 0.9%(w/v) xylitol을 생산하였다.

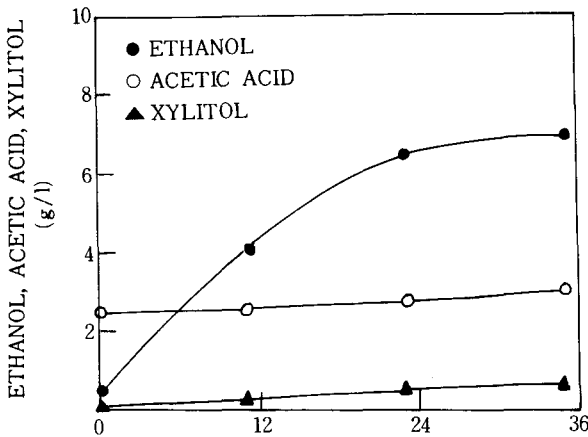


Fig. 15. Product Formation during fermentation of aspen hydrolysate⁷⁹⁾.

VII. 맺음 말

Hemicellulose는 재생 biomass의 약 1/3을 구성한다. Hemicellulose에서 유래하는 탄수화물(주로 pentoses)은 묽은 산 가수분해 공정에 의해 온화한 조건하에서 고수율로 회수할 수 있다. 이들 당은 cellulose에서 유래되는 당(주로 D-glucose)과 함께 에탄올 생산을 위한 잠재적인

기질이 된다.

이들 pentoses를 에탄올로 성공적으로 전환하기 위해서는 이들 당(주로 D-xylose)을 분해할 수 있는 적당한 균주를 선택할 필요가 있다. 세균에 의한 pentoses의 이용은 에탄올 이외에 다양한 부산물을 동시에 생산하기 때문에 만족스럽지 않다. 또한 pentoses를 에탄올로 전환할 수 있는 균사형성 고품평이는 낮은 생육속도와 전환 속도 때문에 에탄올 생산시에 비경제적으로 생각된다.

Biomass서 유래하는 탄수화물을 에탄올로 전환시키기 위한 이상적인 미생물로 효모를 생각할 수 있겠다. 그러나, 재래의 에탄올 발효에 주로 사용하는 *Saccharomyces sp.*는 혐기적으로 pentoses를 이용하지 못하는 단점이 있다. 최근에 재래의 효모와 xylose isomerase를 동시에 사용하여 D-Xylose로부터 에탄올을 생산하는 공정이 개발되어 있으나, 더욱 유리한 것으로 생각되는 일종의 효모를 사용하여 D-Xylose로부터 직접 에탄올을 생산하는 공정이다. 그외에, 단일 효모에 의해 pentoses를 에탄올로 전환시키는 공정과 기존의 에탄올 발효공정(발효기질: D-glucose)을 조합시켜 사용함으로써 에탄올 생산을 위해 사용되는 biomass의 이용성을 보다 증진시킬 수 있겠다. 예로서, 옥수수의 경우, 옥수수의 전분질에서 얻어지는 에탄올이외에, 옥수수의 부산물인 hemicellulose성당(D-Xylose)에서 얻어질 수 있는 부가적인 에탄올을 기대할 수가 있기 때문이다.

Pentoses를 에탄올로 효율적으로 전환시키기 위해서는 pentoses의 생화학적 대사를 잘 이해하는 것이 매우 중요하며, 또한 대사 조절의 이해를 통해 보다 에탄올 생산성이 높은 균주의 개발을 기대할 수 있겠다.

참 고 문 헌

1. Chiang, L. C., Gong, C. S., Chen, L. F. and Tsao, G. T.: *Appl. Environ. Microbiol.* 42, 284 (1981)
2. Chen, W. P.: *Proc. Biochem.* 15, 30(1980)
3. Gong, C. S., Chen, L. F., Flickinger, M. C., Chiang, L. C. and Tsao, G. T.: *Appl. Environ. Microbiol.* 41, 430(1981)
4. Maleszka, R., Veliky, I. A. and Schneider, H. *Biotechnol. Lett.* 3, 415(1981)
5. Jeffries, T. W.: *Biotechnol. Lett.* 3, 213(1981)
6. Suihko, M. L. and Enari, T. M.: *Biotechnol. Lett.* 3, 723(1981)
7. Gong, C. S., Cheng, L. J. and Tsao, G. T.: American Chemical Society Annual Meeting, Washington, DC(1979)
8. Zeikus, J. G.: *Ann. Rev. Microbiol.* 34, 423 (1980)
9. Schneider, H., Shopsis, C. and Wang, P.: *Biomass digest.* 2, 5(1980)
10. Sarkanen, K. V and Ludwig, C. H; *Lignins: Occurance, Formation, Structure and Reactions*, Wiley Interscience, New York(1971)
11. Wilkie, K. C. B.: *Adv. Carbohyd. Chemi. Biochem.* 36, 215(1979)
12. Aspinall, G. O.: *Polysaccharides*, Pergamon Press, 103(1970)
13. Cowling, E. B. and Kirk, T. K.: *Biotech. Bioeng. Symp.* 6, 95(1976)
14. Sjostrom, E.: *Wood Chemistry, Fundamentals and Applications*, p208, New York, Academic Press(1981)
15. Krull, L. H. and Inglett, G. E.: *J. Agric. Food Chem.* 28, 917(1980)
16. Mehlbert, R: *Hemicellulose hydrolysis and leaching*, in: *LORRE Biomass Conversion Conf.*, P. 9, West Lafayette, Ind.; Purdue Univ.(1981)
17. Lee, Y. T., Lin, Y. Y., Johnson, T. and chambers, R. P.: *Biotech. Bioeng. Symp.* 8, 75 (1978)
18. Hajny, G. T.; *Biological Utilization of Wood for Production of Chemicals and Food stuffs.* USDA For, Serv. Res. Pap. FRL 385. Madison, Wis.; Forest Products. Lab.(1980)
19. Bisaria, V. S and Ghose, T. K; *Enzyme, Micro. Technol.* 3, 90(1981)
20. Horecker, B. L: *Pentose Metabolism in Bacteria*, p100 New York: John wiley and Sons (1963)
21. Chang, C and Knight. S. G: *Nature*, 188, 79 (1963)
22. Timell, T. E: *Adv. Carbohyd. chem* 20, 409 (1965)
23. Polyglase, W. J.: *Adv. Carbohyd. Chem.* 10, 283(1955)
24. Mortlook, R. P. and Wood, W. A: *J. Bacterial.* 88, 838(1964)
25. Mortlook, R. P., Fossitt, D. D. and Wood, W. A: *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 54, 572(1965)
26. Lam, V. M. S et al.: *J. Bacterial.* 143, 396 (1980)
27. Shammana, D. K. and Sanderson, K. E.: *J. Bacterial.* 139, 64(1979)
28. Hofer, M., Betz, A. and Kotyk, A.: *Biochim. Biophys. Acta.* 184, 155(1971)
29. Charknavorty, M., Veiga, L. A, Bacila. M. and Horecker. B. L.: *J. Biol. chem.* 237, 1014(1962)
30. Kleinzeller, A. and Kotyk, A.: *Transport of monosaccharides in yeast and its relationship to cell metabolism*, in *Aspects of Yeast Metabolism* (Mills, A. K and Krebs, H. eds.) p

- 33, philadelphia; F. A. Davis. Co.(1967)
31. Alcorn, M. E. and Griffin, C. C.: *Biochim. Biophys. Acta.* 510, 361(1978)
32. Janda, S., Kotyk, A. and Tauchova, R.: *Arch. Microbial.* 111, 151(1976)
33. Niemietz, C., Hauer, R. and Hofer, M.: *Biochem. J.* 194, 433(1981)
34. Hauer, R. and Hofer, M.: *J. Membr. Biol.* 43, 335(1978)
35. Hofer, M. and Mirsa, P. C.: *Biochem. J.* 172, 15(1978)
36. Barnett, J. A.: *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* 32, 125(1976)
37. Park, Y. H., Chang, T. W. and Han, M. H.: *Enzyme. Microb. Technol.* 2, 227(1980)
38. Slein, M. W.: *J. Am. chem. Soc.* 77, 1663 (1955)
39. Chen, W. P.: *Proc. Biochem.* 15, 30(1980)
40. Wilson, B. C. and Mortlock, R. P.: *J. Bacteriol.* 113, 1404(1973)
41. Wood, W. A.: *Ann. Rev. Biochem.* 35, 521 (1966)
42. Suzuki, T. and Onishi, H.: *Agric. Biol. Chem.* 39, 2389(1975)
43. Scher, B. M. and Horecker, B. L.: *Arch. Biochem. Biophys.* 98, 124(1962)
44. Horitzu, H., Tomoeda, M. and Kumagai, K.: *Agri. Biol. Chem.* 32, 514(1968)
45. Horitsu, H. and Tomoeda, M.: *Agr. Biol. chem.* 30, 962(1966)
46. Veiga, L. A. *J. Gen Appl. Microbiol.* 14, 79 (1968)
47. Sugai, J. K. and Veiga, L. A. *An. Acad. Brasil Cienc.* 53, 183(1981)
48. Suzuki, T. and Onishi, H.: *Appl. Microbiol.* 24, 850(1973)
49. Yoshitake, J. et al: *Agri. Biol. Chem.* 40, 1493 (1976)
50. Mitsuhashi, S. and Lampen, J. O.: *J. Biol. Chem.* 204, 1011(1953)
51. Neuberger, M. S., Hartley, B. S. and Walker, J. E.: *Biochem. J.* 193, 513(1981)
52. Gong, C. S., Chen, L. R., Flickinger, M. C. and Tsao, G. T.: *Adv. Biochem. Engng.* 20, 93 (1981)
53. Schneider, P. J., Wang, P. Y., Chan, Y. K. and Maleszka, R.: *Biotechnol. Lett.* 3, 89(1981)
54. Nigam, J. N., Ireland, R. S., Margaritis, A. and Lanchance, M. A. *Appl. Environ. Microbiol.* 50, 1486(1985)
55. Gong, C. S., McCracken, L. D. and Tsao, G. T. *Biotechnol. Lett.* 3, 245(1981)
56. Du Preez, J. C. and Van Der Walt, J. P.: *Biotechnol. Lett.* 5, 357(1983)
57. Jeffries, T. W.: *Biotechnol. Bioeng. Symp.* 12, 103(1983)
58. Nigam, J. N., Margaritis, A. and Lanchance, M. A. *Appl. Environ. Microbiol.* 50, 763(1985)
59. Magaritis, A. and Baipai, P.: *Appl. Environ. Microbiol.* 44, 1039(1982)
60. Morikawa, K., Takasawa, S., Masunaga, I. and Takayama, K.: *Biotechnol. Bioeng.* 27, 509 (1985)
61. Slininger, P. T., Bothast, R. J., Va Cauwenbenge, J. E. and Kurtzman, C. P.: *Biotechnol. Bioeng.* 24, 371(1982)
62. Dekker, K. F. H.: *Biotechnol. Lett.* 4, 411 (1982)
63. Linko, Y. Y., Kautola, H., Uotila, S. and Linko, P. *Biotechnol. Lett.* 8, 47(1986)
64. Scheffers, W. A. *Nature.* 210, 533(1966)
65. Sims, A. P. and Barnett, J. A. *J. Gen. Microbiol.* 106, 277(1978)
66. Delgenes, J. P., Molett, R. and Navaro, J. M.:

- Biotechnol. Lett. 8, 897(1986)
67. Gottschalk, G.: Bacterial Metabolism. (ed. Starr, M. P.). P281, New York. Springer(1979)
68. Doelle, W. H.: Bacterial Metabolism, New York, Acad. Press(1975)
69. Pfeffer, J. T.: Biotech. Bioeng. 16, 771(1974)
70. Rosenberg, S. L.; Enzyme Microb. Technol. 2, 185(1980)
71. Flickinger, M. C., Tetzlaff, C. J. and Tsao, G. T.: Biotechnol. Bioeng. Symp. 10(1980)
72. Tsao, G. T.: Proc. 3rd Ann. Biomass Energy Systems Conf., p. 77, Solar Energy Research Inst., Dep. of Energy, Golden Co.(1979)
73. Peterson, W. H. and E. B. Fred.: Ind. Eng. Chem. 24, 237(1932)
74. O'Brien, R. W. and Morvis, J. G.: J. Gen. Microbiol. 68, 307(1971)
75. Spivey, M. J.: Process Biochem. 13, 2(1978)
76. Wilke, C. K. and Blanch, H. W.: In 3rd Annual Biomass Energy System Conference, SERI, DOE, P79(1979)
77. Arzberger, C. F., Peterson, W. H. and Fred, B. B.: J. Biological Chem. 44, 465(1920)
78. Gong, C. S., Radish, M. R. and Tsao, G. T.: Biotechnol. Lett. 3, 657(1981)
79. Deverell, K. F.: Biotechnol. Lett. 5, 475(1983)
80. Veng, P. P. and Gong, C. S.: Enzyme Microb. Technol. 4, 169(1982)

위장평화 속지말고 숨은간첩 찾아내자