

# Cellulase생산공정중 발생하는 저분자량 분포도의 폐효소류 처리가 고결정화된 비목재 섬유소의 고해에 미치는 영향

김병현\*<sup>1</sup> · 신종순\*<sup>1</sup> · 강영립\*<sup>1</sup> · 박병권\*<sup>2</sup> · 이성구\*<sup>2</sup>

중부대학교 인쇄공학과

태평양 생화학본부

(2000년 1월 20일 접수, 2000년 2월 20일 최종수정본 받음)

## The beating effect of high crystallized nonwood fibers treated with low-molecular weighted waste cellulase in the papermaking processes

*Byong-hyon Kim\*<sup>1</sup> · Jong-sun Shin\*<sup>1</sup> · Young-Reep Kang\*<sup>1</sup> ·*

*Byong-Kwon Park\*<sup>2</sup> · Sung-gu Lee\*<sup>2</sup>*

(Received 20, Jan. 2000, in final form 20, Feb. 2000)

### Abstract

This study is to test the possibility of applying the low-molecular weighted waste cellulase, which is produced in the process of cellulase production, to paper making. After experimenting on high-crystallized non-wood fibers with beating catalyst. I got the result that the condition for the optimal effect is temperature 40~60°C, the time 90min to 120min, pH 5.0 to 6.0, the enzyme contents 0.3% and that the effect of beating such as slight reduction of fiber viscosity, increase of water retention value(WRV) and shortening of fiber length was increased with waste cellulase.

Through this process, the density, folding endurance, tensile strength and burst strength of paper was remarkably increased, which is inferred to result from the increased flexibility of fiber by individual characteristics of non-wood fiber, which was high-crystallized by penetrated low-molecular weight cellulases in the fiber.

---

\*<sup>1</sup>) Dept. of Graphic Arts Engineering, Division of Technological Engineering, Joongbu Univ.

\*<sup>2</sup>) Pacific corporation speciality chemicals & bio-tech division

## 1. 서 론

Cellulose 분해효소는 다양한 입자크기를 갖는 단백질 복합체로서 효소를 분비하는 미생물의 종류 및 변이된 정도에 따라 입자크기가 다양하게 분포되는 특성을 갖는다. Whithaker 등은 Cellulase 생산 미생물원에 따라서 *Myrothe Cium Verrucaria*로부터 생산된 효소의 경우 평균분자량 2,500, 단백질 직경 15Å에서부터 *Trichoderma Viride*로부터 생산된 효소의 경우 평균분자량 80,000, 단백질 직경 80Å 까지 다양한 분자량 분포도와 입자크기를 갖는 단백질로 구성되어 있으며, 이로 인해 기질 분해특성 또한 이들 효소 단백질 입자의 기질로의 접근정도에 따라 상이하게 나타나는 것으로 알려진다.

또한 Wood 등에 따르면 이와 같이 생산된 효소는 Chromatography법에 의해 Sephadex Gel → DEAE Sephadex → Ion exchange resins → Electrophoresis → Electro focusing 방법에 따라 순차적으로 정제할 경우 분리된 각각의 효소 단백질은 분자량 분포특성 및 기질 분해특성이 단순화되는 특성을 갖는 것으로 알려진다. 이와 같은 다양한 효소 단백질의 입자크기 분포특성을 이용하여 효소생산 산업(미생물 발효산업)에서 Cellulase의 구성 단백질의 입자크기 분포를 조정하여 다양한 산업에 이용하고 있는 실정이다.

따라서, 본 연구에서는 현재 국내 효소 생산업체인 (주)태평양에서 청바지류의 탈색제(호발제)로 이용하는 Cellulase가 섬유표면에 부착된 염료의 제거를 목적으로 하기 때문에 생산된 효소 단백질 중 Chromatography법에 의해 분자량 분포도가 20,000 이상인 단백질을 상품효소로 이용하고, 분자량 분포 20,000 이하의 저분자량 효소를 폐수로 방출하고 있는 사실에 착안하여, 이들 저분자량 분포도를 갖는 효소류를 제지공정에 효과적으로 이용할 수 있는 방법을 제시함으로써, 자원의 재활용과 더불어 제지공정의 효과적인 개선을 통한 제품 생산비용의 절감과 제품의 품질향상을 목적으로 하여 실시하고자 한다. 따라서, 제지공정에서 많은 에너지를 소비하는 고해공정 중 가장 결정성이 높은 비목재섬유(Cotton)를 원료로 사용하는 화폐제조 공정에 적용함으로써 고해공정의 합리화와 이를 통한 에너지 절감 및 품질의 향상을 기대하고자 한다. 제지공정 중 고해는 물을 매개체로 하여 기계적인 에너지를 펄프섬유소 내부로 전달하여 섬유의 절단 및 섬유외층제거와 섬유소 내부 피브릴화를 유도하여 종이제품의 지필 균일성(formation 증대)을 기하고 종이의 강도를 증진시킬 목적으로 실시되는 공정으로써 펄프 섬유소의 중합도와 결정화된 정도에 따라 많은 에너지를 소모하는 공정 중의 하나이다.

종이제품 중 지폐는 오랜 기간 유통성과 보존성을 요하는 제품으로서 높은 종이강도를 요구하는 제품이다. 따라서 지폐제조용 펄프는 고강도 특성을 갖는 섬유소로서 고결정화도, 고중합도, 장섬유장 특성을 갖는 비목재 섬유소 중 면(Cotton)섬유소를 원료로 사용하기 때문에 고해공정의 효과적인 유도에 어려움을 가지며, 이로 인해 과다한 고해시간 소요 및 고해 에너지의 과다소모 등 부정적인 요소를 내포한다. 즉, 섬유소의 결정영역은 Ward에 의하면 glucose간 결합이 견고한 형태를 취하는 영역으로 물분자의 침투조차 기대하기 어려운 영역으로 섬유소의 90% 이상이 결정영역으로 구성된 면펄프의 경우 고해공정 중 기계적 에너지의 전달이 용이하지 못할 것으로 사료되며, 이로

인해 과도한 고해 에너지의 소비와 더불어 효과적인 고해효과가 기대되기 어려울 것으로 판단된다. 따라서, 이와 같이 고결정성을 갖는 면펄프에 입자 크기가 작은 Cellulase를 처리하여 결정화율을 저하시킴으로써 고해시간의 단축과 더불어 고해효과를 증대시킬 수 있을 것으로 예측된다.

Cowling 등은 Cotton 섬유소의 경우 섬유표면에 최대 30Å 까지 다양한 크기의 표면 공극을 가지며, 이중 대부분은 10Å의 이내의 표면공극을 갖는다고 하였다. 아울러 Whithaker도 Cellulase의 입자 크기가 최소 15Å에서 80Å까지 다양하게 분포한다고 보고하였다. 따라서, 효소 생산공정 중에 폐효소류로 방출되는 효소류를 고결정성을 갖는 면섬유소의 고해공정에 효과적으로 이용할 경우 효과적인 고해공정의 유도가 가능할 것으로 기대되어 효소처리에 따른 고해시간 단축효과와 아울러 고해효과를 확인하기 위한 섬유의 특성변화(WRV, 섬유장 등)와 종이제품의 강도변화를 중심으로 관찰함으로써 폐효소류의 활용가치를 판단할 목적으로 본 연구를 실시하고자 한다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1 공시재료

#### 2.1.1 폐효소

(주) 태평양 생화학 사업본부에서 생산되는 청바지류 호발제(Textile Cleaning Agent)의 생산공정 중 Gel-filtration 방식에 의해 폐수로 방류되는 저분자량 효소(M. W. 20,000 이하, CMC Activity 40)를 공시효소로 사용하였다.

#### 2.1.2 면펄프

면섬유 중 종자 부위에서 생성된 비교적 단섬유장을 갖는 섬유소를 펄프화하여 sheet 상으로 제조된 Cotton Linter Pulp를 원료로 사용하였다.

### 2.2 실험방법

#### 2.2.1 효소처리

Sheet 상의 펄프를 잘게 찢어 Acetic buffer용액(pH 4.8)을 이용 10% 농도로 해리 후 50℃ 물중탕에서 농도별 효소처리를 한 후 1시간 동안 반응시킨 후 고해를 실시하였다.

#### 2.2.2 고 해

Valley beater를 이용 TAPPI Standard T 200 방식에 따라 실시하였다.

#### 2.2.3 WRV 측정

원심 분리기를 이용 시료를 원심 분리력 3,000g, 온도 21±1℃에서 15분간 원심분리 시킨 후 원심분리 후의 섬유무게와 전건한 후의 섬유무게를 이용하여 식 1-1에 의해 섬유의 보수성 값을 계산하였다.

$$WRV = \frac{W_2 - W_1}{W_1} \times 100 \quad (1-1)$$

여기서 W1 = Oven-dry pulp weight after centrifuging, g

W2 = Wet-pulp weight after centrifuging, g

### 2.2.4 섬유장 분포측정

효소처리 후 300ml, CSF로 고해된 시료를 Kajaani FS-100을 이용하여 섬유장 분포를 측정하였으며, 섬유장 분포변화를 용이하게 관찰하기 위해 1mm이하, 1~2mm, 2mm 이상으로 구간을 설정하여 구간내의 값을 합산하여 무게 비로 환산하였다.

### 2.2.5 효소의 Activity 측정

1% CMC 용액 0.5ml와 1M acetate buffer solution 0.4ml를 혼합한 후 50℃ 물 중탕에서 2분간 방치하여 평형 시킨 후 희석된 효소 액을 0.1ml 첨가하여 30분간 효소반응을 시킨 후 생성된 환원당의 양을 glucose를 표준물질로 한 DNS 방법에 따라 측정하였다.

### 2.2.6 주사전자현미경 촬영

시료를 에탄올 시리즈 방식에 의해 탈수시킨 후 진공건조방식(400mm Hg, 60℃)으로 건조 후 Ion Sputter Coater E 5200C를 이용하여 금도금(18mA, 220sec)을 하고 주사전자현미(Cambridge Instrument Stereoscan100)을 이용하여 시료 경사각 0℃에서 2차 전자상을 관찰하였다.

### 2.2.7 섬유의 점도변화

TAPPI Standard T230 Om-82, Capillary Viscometer 방법에 준하여 실시하였으며, Viscometer는 Cannon type Size number 150을 이용하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1 최적 처리조건 선정

효소처리의 최적화를 위한 온도, pH, 반응시간 조건을 선정하기 위해 CMC(Carboxy Methyl Cellulose)를 기질로 하여 각각의 조건 변화에 따른 효소의 역가변화를 관찰하였다.

#### 3.1.1 효소처리 온도에 따른 Activity 변화

효소는 단백질 물질로서 일정온도(80℃) 이상에서는 구성 단백질의 열변성에 의해 그 기능이 상실되는 것으로 알려져있다. 따라서, 종이제조 공정 중에 효소를 이용할 경우에는 습부공정에서 대부분 효소반응이 진행될 것으로 기대되며, 건부공정(건조공정)에서는 건조공정 중 전달되는 높은 열(120℃)에 의해 단백질의 변성으로 인해 그 활성이 중단될 것으로 기대된다. 따라서, 효소처리가 가

능한 공정인 습부공정 중 고해공정에서 최적의 온도조건을 선정하기 위해 20℃~60℃ 범위에서의 온도변화별 효소 활성도 값을 측정된 결과는 Fig.1과 같다. 비교적 저온범위(20~30℃)에서는 효소의 활성도 값의 증가가 크지 않으나, 온도 40℃ 이상의 범위에서는 크게 증가하는 경향을 나타내며, 온도 50℃에서 가장 큰 활성 값을 나타내는 것으로 나타난다. 이와 같은 결과는 일반적인 효소의 최적 온도 값과 유사한 경향을 보여준다.

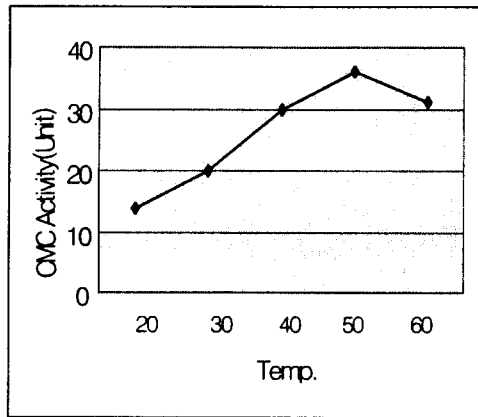


Fig.1 Change of cellulase activity at different temperature

### 3.1.2 효소처리 pH에 따른 Activity 변화

일반적으로 효소는 생성된 미생물원에 따라 최적 pH가 다른 특성을 나타내게 된다. Cellulase를 많이 분비하는 *Trichoderma*속의 미생물들은 Fungi 류로서 이들의 최적 pH범위는 약산성에서 산성범위에 분포하는 것이 일반적인 특징이다. 따라서, 본 연구에 사용된 효소 또한 *T. Viride*에서 분비된 효소류로서 약산성 범위에서 최적의 pH값을 가질 것으로 기대된다.

현재 종이를 제조하는 공정들이 대부분 중성 pH범위에서 운영되는 점을 감안하여 산성범위에서부터 중성범위에 이르는 pH범위에서의 활성값 변화를 관찰한 결과는 Fig.2와 같다. 그림에서 보듯이 이 효소는 약산성에서 중성 범위에 걸쳐 광범위한 pH 범위를 갖는 것을 확인할 수 있었으며, 특히 pH 5.0~6.0범위에서 가장 높은 활성값을 나타내고 있다.

따라서, 현재 국내 제지공정을 비롯하여 지폐용지를 제조하는 초지공정이 pH 6.0~7.0범위에서 운용되고 있는 점을 감안할 때 이 효소의 적용 시 별도의 pH조절 없이도 사용이 가능할 것으로 예측된다. 이와 같은 결과들은 김 등이 Cellulase의 최적 pH 선정에 관한 결과와도 유사한 경향을 나타내고 있음을 확인할 수 있었다.

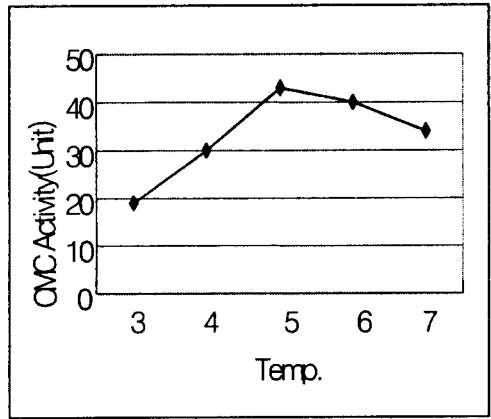


Fig.2 Change of cellulase activity at different pH

3.1.3 효소처리 시간에 따른 Activity 변화

초지공정 중 효율적인 효소처리 위치를 선정하기 위해 효소 반응시간에 따른 역가값의 변화를 관찰하였다. Sheet상태의 펄프를 해리 하여 고해와 습부공정을 거쳐 건조과정에 이르는데 소요되는 시간은 고해공정에 소요되는 시간의 차이에 따라 다소의 차이는 있으나, Refiner를 이용하여 고해를 실시하는 일반적인 종이 제조공정의 경우는 2시간 이내의 시간이 소요될 것으로 예측된다. 반면에 고결정화된 비목재섬유를 원료로 사용하여 고강도지를 제조하는 공정인 지폐용지의 제조공정을 고해공정에 Beater를 이용하기 때문에 고해공정에서만 2시간 이상의 시간이 소요되며, 습부공정 상에서는 상황에 따라 3시간 이상의 시간이 소요될 것으로 예측된다.

따라서, 본 실험에서는 이와 같은 상황을 고려하여 효소 반응시간 1시간에서 3시간 사이의 반응시간별 역가값 변화를 관찰함으로써 적절한 효소처리 위치를 선정함과 동시에 비목재섬유를 사용하는 경우에 고해공정 중에 효소를 처리할 경우 효소 반응시간의 과다에 따른 부정적인 요인여부를 판단하고자 할 목적으로 실시하였다.

Fig.3에서와 같이 효소처리 후 90분 경과 지점에서 활성값이 최대에 도달하는 현상을 확인할 수 있었으며, 이후 반응시간의 경과에 따른 활성값 저하현상은 관찰되지 않았다. 따라서, 고결정화된 비목재 섬유소를 사용하는 지폐 제조공정 중 고해공정에 효소를 처리하더라도 효소 반응시간의 과다에 따른 부정적인 결과의 예측은 크지 않을 것으로 판단된다.

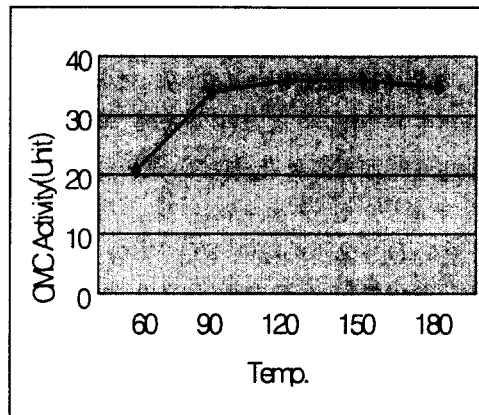


Fig.3 Change of cellulase activity at different reaction time

### 3.2 효소처리 조건별 고해도 변화

종이 제조공정 중 고해공정은 물을 매개체로 한 기계적인 에너지를 섬유 내부로 전달시킴으로써 섬유소 내부의 형태변화를 유도하여 섬유의 팽윤을 촉진하여 유연성을 증대시키거나 섬유내부 결합력이 느슨한 부위의 파괴에 의한 섬유관을 단섬유화 함으로써 종이의 지필 균일성을 증대시키고, 종이의 물리적 강도특성을 향상시킬 목적으로 실시된다. 이와 같은 섬유형태 변화(섬유의 유연성 증대, 단섬유화)를 정량적으로 제어할 수 있는 방법으로는 고해기의 기계적 조건변형(고해기 날의 조정 및 간극조정 등)에 의한 방법과 고해 조건의 변형(고해농도, pH, 온도 조정 등)의 방법에 의해 제어 및 유도가 가능하다. 지폐용지 제조공정과 같이 고결정화된 비목재섬유를 원료로 사용하는 경우에는 이와 같은 기존의 방법 등을 통한 고해의 제어가 극히 제한적이며, 이로 인해 효과적인 고해효과(섬유 유연성 증대, 단섬유화)를 기대 하기가 어려울 것으로 판단된다.

따라서, 본 절에서는 효소첨가제를 이용하여 섬유의 내부 개질을 유도한 후 고해효과를 관찰하기 위해 실시하였으며, 효과적인 효소처리조건을 선정하여 초지공정 중 적용효과를 증대시킬 목적으로 효소처리량, 효소처리온도, 효소반응시간을 최적화하기 위해 실시하였다.

#### 3.2.1 효소처리 농도별 고해도 변화

효소의 반응은 효소단백질 입자가 기질표면에 흡착하여 특정한 반응을 유도하는 기질 친화성을 가지며, 이로 인해 효소의 처리량에 따른 기질의 개질 특성을 상이하게 나타나게 된다. 즉, 효소의 처리량이 과소할 경우에는 기질의 균일한 개질이 기대되기 어렵고, 반대로 과량의 경우에는 효소반응의 과잉에 의해 기질의 개질보다는 부정적인 분해현상에 의한 제품의 품질저하 요인으로 작용될 것으로 판단된다. 따라서, 효과적인 효소처리량을 판단하기 위해 효소처리 농도별 고해도 변화를 관찰한 결과는 Fig.4와 같다. 여기에서 0.1% 효소처리의 경우는 50분간 고해 후 여수도값 변화가 무

처리 시료에 비해 20ml, CSF의 저하에 그친 것을 확인할 수 있었는데, 이 경우는 효소 처리량의 과소에 의한 결과로 판단되어 진다.

반면에 0.3% 효소처리의 경우에는 50분간 고해 후 여수도값의 변화가 무처리 시료에 비해 120ml, CSF 저하한 것으로 미루어 처리된 효소의 반응에 의해 고결정화된 비목재 섬유소 내부의 형태변화가 유도된 후 고해함으로써 고해효과가 증대된 결과로 예측된다. 즉, 효소의 반응에 의해 섬유소 내부의 결정영역의 개질이 이루어진 후 고해에 의해 기계적 에너지의 전달이 촉진된 결과로 예측되며, 이로 인해 섬유의 중합도(D. P) 저하와 아울러 WRV 등 유연성을 평가하는 값이 증가하였을 것으로 판단된다. 이와 같은 판단의 근거로 고해 초기의 여수도값 증가폭보다는 고해후반의 여수도값 증가폭이 크게 관찰되는 데서도 확인할 수 있었다. 0.6%, 0.8% 효소처리의 경우도 0.3% 효소처리의 경우와 비교 시 큰 폭의 여수도값 저하현상이 관찰되지 않는 것으로 미루어 효소처리의 적정 농도는 0.3%가 가장 적합할 것으로 판단된다.

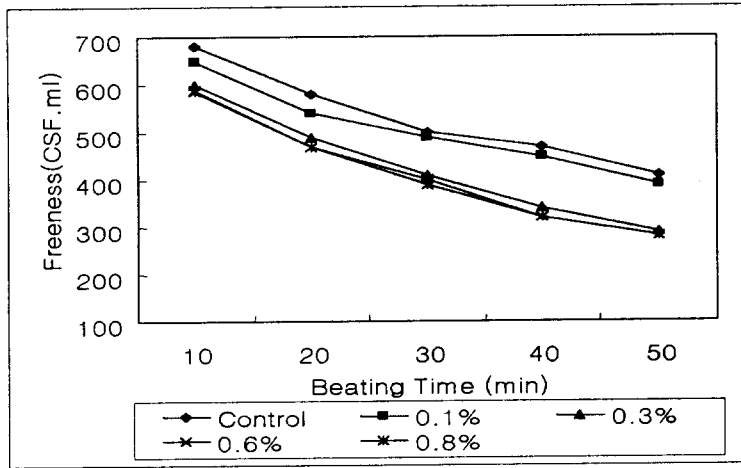


Fig.4 Effect of freeness at different contents of waste cellulase (Temp. 50°C, reaction time 120min)

### 3.2.2 효소처리 온도별 고해도 변화

고해 전 10% 농도의 펄프 현탁액에 효소를 0.3% 처리한 후 효소처리 온도를 30°C, 40°C, 50°C, 60°C로 변화시켜 각각 2시간 효소반응을 시킨 후의 고해시간별 고해도 변화를 관찰한 결과는 Fig.5와 같다. 효소반응 온도 30°C의 경우는 무처리 시료에 비해 큰 폭의 여수도 값 저하효과가 관찰되지 않았으나, 40°C, 50°C, 60°C의 반응온도에 의해서는 여수도 변화 폭이 크게 저하되는 것으로 미루어 효소반응에 의한 고해효과가 증대되는 것으로 판단된다. 특히 반응온도가 높은 범위에서 여수도 변화 폭이 크게 관찰되는 결과는 앞 절의 CMC를 기질로 한 역가변화 관찰 시와는 약간의 차이를 나타내는 결과로 확인되는데, 이와 같은 현상은 본 실험이 고해 전 효소반응 온도를 조절한 후 고해 시는 온도의 조절 없이 일반적인 물로 희석하여 고해함으로써 실제 고해온도와 효소반응시의 온도에



는 큰 차이를 나타낸 결과에 의한 것으로 판단되며 이와 같은 결과로 미루어 효소의 반응은 고해 중에도 상당부분 촉진되고 있는 것으로 판단된다.

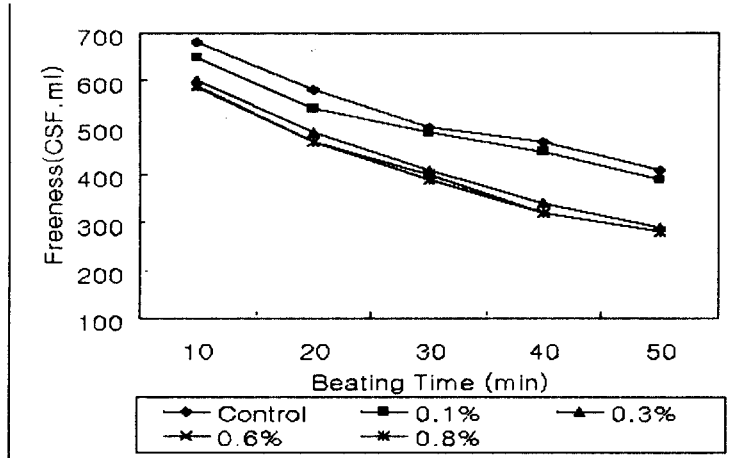


Fig.5 Effect of freeness at different reaction temperature of waste cellulase (enzyme contents 0.3%, reaction time 120min)

### 3.2.3 효소처리 시간별 고해도 변화

고해 전 효소반응 시간을 변화시킨 후(30분, 60분, 90분, 120분) 고해에 의한 고해도 변화를 관찰한 결과는 Fig.6과 같다.

고해 중에도 효소의 반응이 진행될 것으로 예측되기 때문에 실제적 효소반응 시간은 고해 전 반응 시간에 고해 소요시간인 50분을 합한 값으로 환산한 값이 될 것으로 판단되고, 120분 반응의 경우는 170분간 효소반응이 일어날 것으로 예측된다.

이와 같이 고해 중에 효소 반응이 진행될 것으로 예측되는 결과는 고해초기와 고해후기의 효소 반응시간별 편차에서도 엇볼 수 있듯이 고해초기인 10분 고해 후에는 30분 반응과 120분 반응의 경우 여수도값 변화가 70ml, CSF로 큰 폭인 반면에 고해후기인 50분 고해 후에는 40ml, CSF로 감소하는 결과를 확인할 수 있었다.

이와 같은 결과를 종합할 때, 고해후기를 기준으로 하여 60분 효소반응 즉, 고해시간을 합한 110분 이상 효소반응 조건에서 여수도값의 변화 폭이 크지 않은 것으로 미루어 효소의 반응시간은 110분 이상에서 최적의 효과를 나타내는 것으로 확인되며, 이와 같은 결과는 제지과정 중 효소 반응시간이 90분 이상에서 적정화된다는 보고와도 유사한 결과로 확인된다.

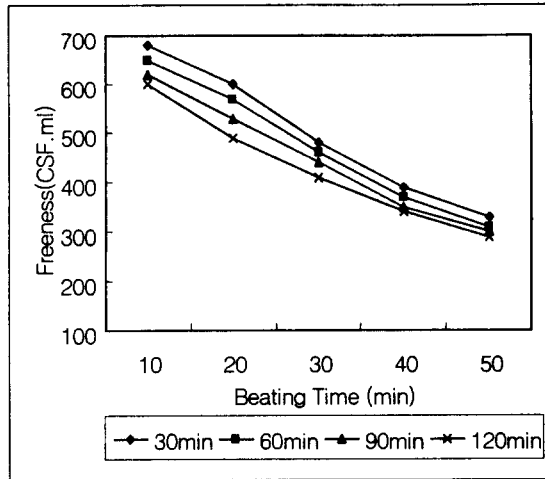


Fig.6 Effect of freeness at different reaction time of waste cellulase (Temp. 50°C, enzyme contents 0.3%)

### 3.3 효소처리에 의한 섬유의 특성변화

고결정화된 비목재 섬유소는 고해공정에 의해 섬유장 분포의 단섬유화 및 섬유소 내부 피브릴화에 의한 유연성 부여에 한계를 가진다. 그러나, 효소발효공정 중 생성되는 폐효소류의 경우 비교적 입자크기가 작은 저분자량 분포도의 단백질로서 이들 효소류의 섬유소 내부 침투가 예상되며, 이로 인해 고결정화된 부위의 비결정화가 유도될 것으로 예측된다. 이와 같은 섬유소 내부개질효과는 고해효과를 촉진시킬 수 있는 요인으로 작용될 것으로 판단되며, 이로 인해 섬유장 분포의 단섬유화 및 섬유의 유연성이 증대될 것으로 판단된다. 이와 같은 판단의 근거로는 Cowling 등이 고결정화된 Cotton 등은 섬유표면에 최대 30Å 크기의 세포벽 모세관을 가지고 있으며, Whithaker 등이 Cellulose를 분해하는 효소의 경우 단백질의 입자 크기가 최소 15Å에서부터 최대 80Å 까지 광범위하게 분포한다고 한 결과에서도 확인할 수 있었다. Nisizawa에 의하면 효소에 의한 섬유소 가수분해는 최초로 준결정영역(Para Crystalline region) 및 비결정영역(amorphous region)에서 효소가수분해가 먼저 일어나며, 이어서 결정화된 영역(Crystalline region)에서의 가수분해에 의한 섬유소의 중합도 저하 및 단섬유화가 일어난다는 주장에 의해서도 판단이 가능할 것으로 사료된다.

따라서, 본 실험에서는 고결정화된 비목재 섬유소가 저분자량의 효소침투에 의한 내부 결정화된 영역의 개질이 이루어진 후의 고해효과를 확인하기 위해 섬유의 유연성을 평가하는 지표인 WRV와 섬유의 중합도를 평가할 수 있는 점도값 변화 및 섬유장 분포의 단섬유화 정도를 확인하기 위한 섬유장 분포값 변화를 관찰함으로써 효소처리에 관한 고해효과를 확인하고자 실시하였다.

### 3.3.1 WRV(Water Retention Value)

WRV는 건조된 섬유소가 함유할 수 있는 물의 양을 측정하는 값이다. 이것은 섬유의 팽윤된 정도와 기공성을 측정하는 실험으로서 섬유의 유연성을 예측하여 고해효과를 확인하기 위한 좋은 지표로 활용된다. 즉, 고해가 효과적으로 진행될 경우 섬유소의 외층이 박리되고 이로 인해 물의 섬유소 내부 침투를 촉진시켜 섬유소 내부의 피브릴 간 수소결합을 파괴함으로써 물의 함유능력을 증대시켜 섬유소의 팽윤을 유도하기 때문에 섬유의 유연성 증가와 이로 인한 WRV를 증가시키게 되기 때문에 섬유의 고해된 정도와 종이제조 시 강도를 예측할 수 있는 좋은 지표값으로 이용된다. Fig.7 에서와 같이 고해구간별 WRV의 변화는 효소처리를 한 시료와 효소처리를 하지 않은 시료간에 현격한 값의 차이를 확인할 수 있었다.

효소처리에 의해 고해시간이 증가할 수록 WRV의 급격한 증가현상을 확인할 수 있었는데, 이와 같은 결과로 미루어 효소처리에 의해 섬유소 내부개질이 효과적으로 진행되었고, 이로 인해 고해효과가 향상된 결과로 판단된다.

반면에 무처리 시료의 경우는 고해가 진행됨에 따라 WRV 증가폭이 미미한 결과로 미루어 보아 섬유소 내부의 고결정화로 인해 효과적인 고해가 일어나지 않은 것으로 판단되며, 이로 인해 섬유의 유연성 증대가 유발되지 않은 것으로 예측된다.

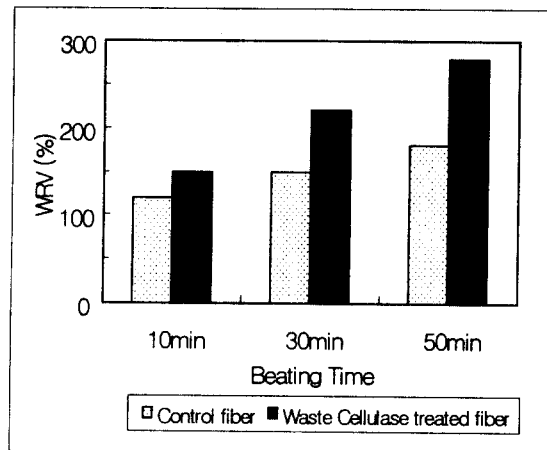


Fig.7 Effect of water retention value(WRV) with the waste cellulase in the beating process

### 3.3.2 섬유점도

섬유의 점도는 섬유소를 구성하는 Cellulose의 중합도를 예측하기 위한 자료로 활용된다. 일반적으로 모든 섬유소는 고해가 진행되는 동안 미미한 정도의 점도가 저하하는 것으로 알려지며, 이와 같이 고해에 의한 점도저하 현상은 고해과정에 수반되는 섬유장의 단섬유화 및 내부·외부 피브릴 화에 의해 발생하는 결과로 알려진다. 그러나 효소처리의 경우는 Fig.8에서와 같이 이와 같은 고해

과정 중 수반되는 점도저하를 증가하는 점도의 저하현상이 확인되며, 이와 같은 저하현상은 고해가 진행될 수록 촉진되는 결과를 확인할 수 있었다. 이러한 결과로 미루어 폐효소류가 갖는 입자크기 특성으로 인해 섬유소 표면공극을 통한 내부로서 침투가 수행된 것으로 예측되며, 이로 인해 섬유소 내부를 구성하는 Cellulose 분자상의 개질을 유도하고 이와 같은 효소반응이 고해효과를 촉진시킨 결과로 판단된다. 그러나 일반적으로 과도한 섬유점도 저하현상은 오히려 종이의 강도 측면에서는 부정적으로 작용될 것으로 판단되나, 본 시료의 경우 고결정화된 비목재 섬유소로서 목재 섬유소에 비해 월등히 높은 점도값을 가진 점을 감안하면 효소처리에 의한 7% 정도의 점도값 저하는 이로 인한 섬유의 유연성 증대효과를 감안한다면 종이의 강도 증가에는 오히려 효과적으로 작용될 것으로 예측된다. 즉, Page 등은 “종이의 강도값은 섬유소가 갖는 강도값(중합도, 점도)과 고해에 의한 섬유의 유연성 유도 등에 의한 섬유간 접합 강도값이 효과적으로 분배될 때 종이의 강도가 증가한다”고 하였다.

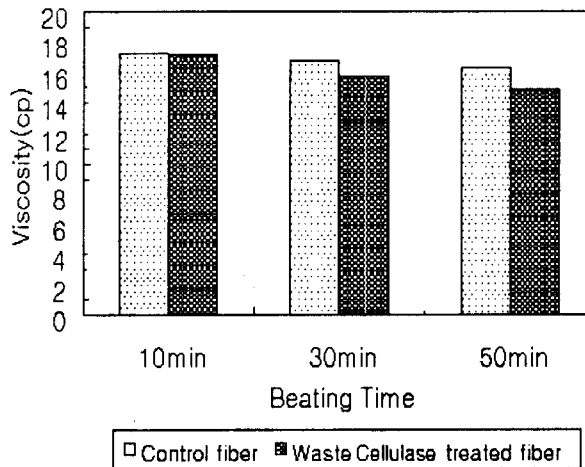


Fig.8 Change of fiber viscosity with waste cellulase in the beating process

### 3.3.3 섬유간 분포

고해는 섬유주위의 수막층이 고해기를 통한 압축력을 섬유내부로 전달하는 공정으로 이로 인한 섬유의 유연성 증대와 더불어 섬유의 절단을 동시에 수반하게 된다. 따라서, 고해가 진행될 수록 섬유는 단섬유화가 촉진되어 단섬유비율이 증가하는 반면에 장섬유 비율은 저하하게 되는 특성을 갖는다. 그러나 고결정화된 비목재섬유의 경우 Fig.9의 Control 시료에서 보는 바와 같이 섬유장 2mm 이상의 장섬유 비율이 37%로 오히려 가장 높게 나타나며, 1mm 이하의 단섬유비율은 28%로 가장 낮게 나타나는 특성을 보인다. 이와 같은 결과로 미루어 종이 제조시 지필형성의 균일성이 기대되기 어려우며, 이로 인해 종이의 formation 저하 및 종이강도의 불균일성을 초래하여 종이제품

의 품질을 저하시키는 요인이 될 것으로 판단된다.

그러나, 효소처리 시료의 경우는 이와 같은 섬유장 분포의 불균일성이 해소되어 2mm 이상 장섬유 분포가 18%로 최소화되고 반대로 1mm 이하 단섬유 분포는 42%로 최대 값을 갖는 결과를 확인할 수 있었는데, 이와 같은 결과는 일반적인 섬유소의 고해에 의한 섬유장 분포값과 유사한 결과로써 효소처리에 의해 고해가 정상적으로 진행된 결과로 판단된다. 이로 인해 종이 제품의 지필균일성의 향상과 아울러 종이강도의 균일성에 긍정적으로 작용될 것으로 판단된다.

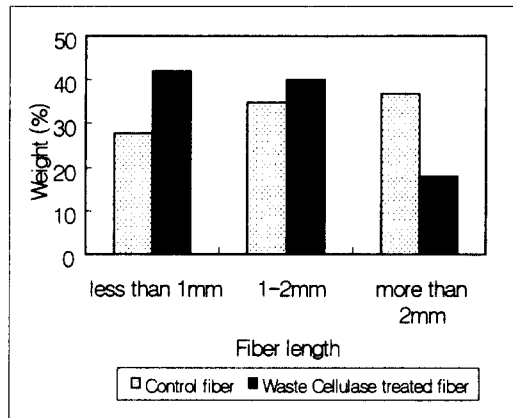


Fig.9 Fiber length distribution with waste cellulase treatment

### 3.4 종이의 강도변화

Page 등에 따르면 종이의 강도값을 대표하는 인장강도의 경우 섬유소 자체 강도와 고해에 의한 섬유의 유연성 증대로 발현되는 섬유소 간 접합강도가 적절히 배분될 경우 증가한다고 하였다. 따라서, 고강도 용지를 제조하기 위해서는 중합도가 높은 즉, 섬유소 자체강도가 높은 섬유소를 원료로 사용해야 함은 물론 적절한 고해효과의 유도에 의한 섬유소의 유연성 증대를 필요로 한다. 그러나 중합도가 높은 섬유소의 경우 대부분 비목재 섬유소로써 이들 섬유소는 목재섬유에 비해 결정영역이 높은 특성을 갖는다. (목재섬유 결정화도 50~60%, 비목재섬유 결정화도 80~90%) 따라서, 고결정화된 비목재 섬유소의 경우 고해에 의한 섬유장 분포의 단섬유화와 아울러 섬유소의 내부 피브릴화 유도에 의한 유연성 증대를 기대하기에는 한계성을 갖고 있다. 이로 인해 비목재 섬유소를 원료로 사용하는 종이의 경우 섬유소 자체강도와 섬유소간 접합강도의 배분이 단극화하는 경향을 나타내므로 효과적인 종이강도의 증가를 기대하기 어려운 실정이다.

이와 같은 이유로 인해 종이 제품 중 가장 높은 강도값을 요구하는 지폐용지의 경우, 종이 제조과정 중 강도증가를 목적으로 별도의 표면처리 공정을 요구하게 되며, 과도한 표면처리에 의해 지폐용지의 품질을 저하시키는 요인으로 작용하게 된다. 따라서, 본 연구에서는 이와 같은 부정적 요인을 극복하고 효과적인 고해를 유도하여 섬유의 유연성을 부여할 목적으로 폐효소를 고해 보조제로 활

용하였으며, 이에 대한 종이강도 증가효과는 Table.1과 같다.

Table.1 Effect of paper physical properties with waste cellulase treatment

Cellulase	Density (g/m <sup>3</sup> )	Tensile Strength (Kg/15mm)	Folding Endurance (MIT · 회/Kg)	Burst Strength (Kg)
none treatment	0.61	7.7	900	6.8
Waste Cellulase treatment	0.67	8.6	3,000	7.6

표에서 보는 바와 같이 효소를 처리하지 않은 기존의 방식에 비해 폐효소류를 처리한 경우에는 밀도값이 0.61g/cm<sup>3</sup>에서 0.67g/cm<sup>3</sup>로 증가하는 것으로 미루어 섬유 유연성 증대에 의한 섬유간 접합력이 현격하게 증대되었음을 예측할 수 있다. 일반적으로 목재 섬유소의 경우, 정상적인 고해가 수행된 경우의 종이밀도가 0.67g/cm<sup>3</sup> 부근임을 감안할 때 효과적으로 고해가 수행된 것으로 판단된다. 아울러 밀도증가에 의한 인장강도와 내절강도 및 파열강도가 현격하게 증가하고 있음을 관찰할 수 있는데, 이는 섬유소 자체강도가 높은 비목재 섬유소를 사용하여 효과적인 고해유도에 의한 섬유소 접합강도를 증가시킴으로써 종이의 전반적인 강도가 증가한 것으로 판단된다. 특히 내절강도의 경우 종이의 내구성을 평가하는 강도로써 300% 이상의 강도증가 효과를 확인할 수 있었는데, 이는 WRV 변화에서도 확인할 수 있었듯이 섬유의 유연성 증대에 의한 결과로 판단된다.

### 3.5 전자현미경 관찰

폐효소 처리에 의한 고해효과를 시각적으로 관찰하기 위해 SEM을 이용 섬유의 표면과 내부변화를 관찰한 결과는 Photo.1, 2와 같다. Photo.1은 섬유의 표면변화를 관찰한 결과로 A의 경우는 효소 처리 없이 300ml, CSF로 고해된 시료로써 섬유내부의 팽윤효과 없이 외부 피브릴이 일부 노출된 상태를 확인할 수 있었으며, 이와 같은 결과로 미루어 효과적인 고해가 이루어지지 못한 것으로 판단된다. 이로 인해 섬유의 유연성(WRV 등) 증대에 효과적이지 못하고 종이강도 또한 크게 증가하지 못한 것으로 판단된다.

반면에 B의 경우는 폐효소류를 0.3%처리한 후 300ml, CSF로 고해한 후의 섬유표면상태로 A에 비해 상대적으로 비표면적이 크게 증가한 결과를 확인할 수 있는데, 이와 같은 현상은 폐효소류가 섬유내부로 침투하여 섬유내부의 Cellulose 다발을 효과적으로 분해함으로써 섬유의 유연성을 크게 증대시킨 결과로 판단된다. 이와 같은 결과는 섬유의 WRV, 점도, 종이강도에서도 확인할 수 있었는데, 이는 폐효소류 처리에 의해 고해시 효과적인 고해가 유도된 결과에 따른 것으로 판단된다.

Photo.2는 섬유내부의 Cellulase다발의 형체변화를 관찰한 결과로 폐효소류 처리에 의해 Cellulose다발인 Microfibril이 효과적으로 해섬됨으로써 섬유의 비표면적 증대와 섬유간 결합력 증대에 효과적으로 작용된 것을 확인할 수 있다.



A



B-1



B-2

Photo. 1 Scanning electron micrographs of refined cotton linter fiber surface treated with waste cellulase

A. control      B. waste cellulase treated fiber

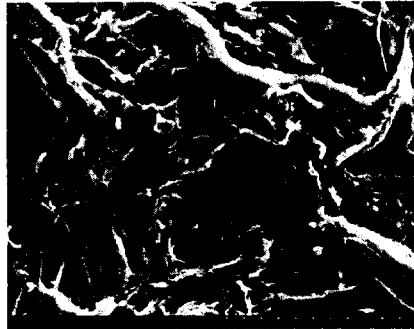


Photo. 2 Scanning electron micrographs of refined cotton linter fiber treated with waste cellulase

## 5. 결 론

효소생산 공정 중 폐효소로 처리되는 저분자량 분포의 Cellulose 분해효소를 제지공정 중 고해가 극히 어려운 고결정화된 비목재 섬유소에 고해 보조제로 활용 가능성을 관찰한 결과는 다음과 같다.



- 가. 폐효소류 처리에 의해 섬유소의 점도가 미미하게 저하하는 현상을 확인할 수 있었으며, 섬유소의 WRV의 증가현상 및 섬유장 분포의 단섬유화가 효과적으로 이루어진 것으로 미루어 폐효소류가 고해효과를 증대시킨 것으로 확인되었다.
- 나. 섬유 표면변화를 관찰한 결과 비표면적의 증가현상 및 섬유내부의 섬유간 결합의 파괴에 의한 외부 피브릴화가 증가한 것으로 미루어 폐효소류가 섬유소 내부로 침투 가능성이 확인되며 이로 인해 고해효과를 증대시킨 것으로 판단된다.
- 다. 폐효소류의 최적 처리조건을 관찰한 결과 반응온도 40~60℃, 반응시간 90~120분, pH 5.0~6.0, 처리농도 0.3%에서 최대효과를 확인할 수 있었으며, 최적화된 조건에서 무처리 시료에 비해 40%의 고해시간 단축효과를 확인할 수 있었다.
- 라. 종이의 강도변화를 관찰한 결과 폐효소류 처리에 의해 종이의 밀도증가와 인장강도, 내절강도, 파열강도의 현격한 증가현상을 확인할 수 있었으며, 특히 내절강도의 경우 무처리 시료에 비해 300% 이상 증가하는 결과를 확인하였다.

## 참 고 문 헌

1. 김병현, 전양 : 화학펄프 고해시 셀룰로오스 분해효소의 조효소별 농도조합에 의한 펄프섬유 표면 개질효과 분석, 펄프종이기술, 28권 3호, 1996
2. 김병현, 전양 : 제지공정 적용을 위한 Cellulase 정제특성 및 처리조건 선정에 관한 연구, 펄프종이기술, 30권 1호, 1998
3. 김병현, 전양 : Cellulase 구성 요소별 처리에 의한 펄프섬유의 특성변화, 펄프종이기술, 30권 2호, 1998
4. A·Bourret, Crystallite Features of Valonia Cellulose by Electron Diffraction and Dark-Field Electron Microscopy, Biopolymers II: 893, 1972
5. A·M·Scallan and J·E·Carles, The Correlation of the water retention Value with the fibre saturation point, svensk papperstidning arg·75: 699
6. Chanzy·H and Henrissat·B, unisirectional degradation of Valonia cellulose microcrystals subjected to cellulase action, FEBS 184(2), 1985
7. Daniel F·Caulfield, Wayne, E·Moore, Effect of Varying Crystallinity of cellulose on Enzymic hydrolysis, Wood Science 6(4): 375, 1974
8. D·R·Whitaker, J·R·Colvin and W·H·Cook, The Molecular Weight and shape of Myrothecium Verrucaria Cellulase, Division of Applied Biology, National Research Laboratories, ottawa, Canada, 1953

9. D · R · Whitaker, The Mechanism of Degradation of a Cellulodextrin by Myrotheium Cellulase, Canadian J · of Biochemistry and Physiology 34 : 488, 1956
10. E · B · Cowling, properties of cellulose and lignocellulosic Materials as substrated for Enzymatic Conversion processes, Biotechnol and Bioeng · symp · (6) : 95, 1976
11. Ganapati, R · Bhat, John, A · Heltmann, and Thomas, W · Joyce, Novel techniques for enhancing the strength of secondary fiber, TAPPI 74(12), 1991
12. G · Pettersson, E · B · Cowling and J · Porath, Studies on Cellulolytic enzymes ; isolation of a low-molecular weight Cellulase from polyporus Versicolor, Biochem · Biophys · Acta 67 : 1, 1963
13. Harold Tarkow, W · C · Feist, and C · F · Southerland, interaction of wood with polymeric materials : penetration Versus Molecular Size, Forest products J · 16(10) : 61, 1966
14. Honshu. paper co · , improvement of broadleaf tree pulp by adding an enzyme to pulp to improve pulp quality, patent J 63135597, 1988
15. Honshu. paper co · , paper pulp production using enzymes to give rapid beating with reduced power consupion, patent J 60126395, 1985
16. Jean · Claude pommler, Jean-Luc Fuentes, and Gerard. Goma, Using enzymes to improve the process and the product quality in the recycled paper industry, TAPPI J · 72(7), 1989
17. J · E · Stone and A · M · Scallan The effect of component Removal upon the porous structure of the Cell Wall of Wood, Technical section 21(7) : 69, 1968
18. J · E · Stone and A · M · Scallan, Digestibility as a simple Function of a Molecular of similar Size to Cellulase Enzyme, Cellulase and Their applications Chapter 13P · 219
19. K · w · King, Enzymic Degradation of Crystalline hydrocellulose, chemical and Biochemical Research communication 24(3) : 295, 1966
20. L · Scott Jackson, John A. Helfmann, and Thomas W · Joyce, Enzymatic modifications of secondary fiber, TAPPI J · 76(3), 1993
21. L · T · Fan, Yong-hyun Lee, David H · Bealdmore, Major chemical and physical Features of Cellulosis Materials as substrates for Enzymatic Hydrolysis, Kansas state University 101, 1977
22. Robert Blum and William, H · Stahl, Engymertic Degradation of cellulose Fibers, Textile Research J · 3 : 178, 1952

23. S · D · Alexander, Renata Marton, and S · D · MCGovern, Effect of Beating and Wet pressing on Fiber and Sheet properties : individual fiber properties, TAPPI J · 51(6) : 277, 1968
24. Stanley P · Rowland and Earl, J · Roberts, The Nature of Accessible surface in the Microstructure of cotton cellulose, J · of polymer science part A-1 10 : 2447, 1972
25. T · M · Wood, and Shella, I · McCrae, Synergium Between Enzymes involved in the solubilization of Native cellulose, American Chemical society Chapter 10 : 181, 1979
26. Yoshitaka Ogiwara and Kenichiro Arai, Swelling Degree of Cellulose Materials and Hydrolysis Rate With Cellulase, Textile Research J · P885 September, 1968
27. Yoshitaka Ogiwara and Kenichiro Arai, Change in Degree of polymerization of Wood pulp with Cellulase Hydrolysis, Texture Research J · 3 : 422, 1969