

바이오 정련 시 효소의 안정성

김수연 · 우성만 · 양윤식 · 김주혜* · 최은경

한국생산기술연구원 환경염색가공팀

*corresponding author

1. 서론

섬유가공에 효소를 사용하기 시작한 것은 1800년대 말로 면직물의 호발에 아밀라아제를 사용하면서부터이다. 현재는 아밀라아제뿐만 아니라 셀룰라아제, 카탈라아제, 퍼옥시다아제, 펙티나아제 등의 효소가 섬유가공의 다양한 공정에 사용되어지고 있다. 섬유가공에의 효소의 이용은 효소가 생분해되며 중성에 가까운 pH에서 반응하므로 친환경적인 측면에서 부각되어지고 있다. 또한, 효소는 선택적으로 반응하므로, 부반응으로 생기는 섬유의 손상을 막을 수 있다는 장점을 지닌다. 그러나 무엇보다도 섬유가공에의 효소의 이용이 급속히 도입될 수 있는 것은 효소를 이용한 가공을 위해서 특별한 설비의 제작이나 교체없이 기존의 가공설비를 그대로 사용할 수 있다는 것을 것이다. 일례로, 현재 그 실용화가 목전에 있는 면직물의 정련의 경우, jet와 jigger를 비롯한 기존 설비를 그대로 사용할 수 있음은 물론이고, 연속식이나 반연속식인 Cold-Pad Batch(CPB)방법으로도 단독 정련 또는 호발-정련 동시처리가 가능하다.

효소는 화학약품과는 달리 시간 및 온도 등의 조건에 따라 급속히 또는 점차 그 활성을 잃어가는 특성을 지닌다. 따라서 섬유의 처리시간 및 온도는 사용하는 효소의 활성정도에 따라 정하는 것이 효과적이라 할 수 있다. 면직물을 효소를 이용하여 CPB법에 의해 호발-정련을 수행할 경우 호발 및 정련 효과는 패딩온도가 효소 활성 최적온도일 경우 가장 클 것으로 추정된다. 그러나, 효소는 최적활성을 나타낼 때 가장 빨리 그 활성을 잃게 되므로 최적조건을 확립하기 위해서는 적절한 패딩온도와 패딩에 소요되는 시간을 정할 필요가 있다. 따라서 본 논문에서는 가장 효과적인 패딩조건을 확립하기 위한 일환으로 여러 가지 온도 및 시간에서 정련용 효소의 활성도 추이를 고찰하였다.

2. 실험

효소의 활성도 측정은 두 가지 다른 방법에 의해서 수행되었으며, 각각의 경우에 온도 40, 50, 60°C에서 10, 20, 30, 60, 120분 동안 반응시킨 후 그 활성을 측정하였다. 효소는 NOVO사로부터 제공받은 Scouzyme L을 사용하였다.

2-1. NOVO assay

효소활성이 그 자체로 변화하는 것 이외에도 반응용액에 첨가되는 침투제나 섬유등의 다른 물질들에 의한 영향으로 변화할 수 있으므로, 다음의 네가지 조건의 반응액에서 효소 활성도를 측정하였다 (Table 1). 반응 조건들은 실제 정련을 할 경우에 준하여 조성비를 결정해야하지만, 실제 정련에서는 극소량의 효소를 사용하므로 활성도 측정을 위한 최소량에 미치지 못하므로 효소 투입량을 실제 정련보다 100배 증가시켜 투입하였다. 따라서 계면활성제인 침투제의 양도 그에 상응하게 사용하였다. 용액 제조 시 용수는 수돗물을 사용하였는데, 상기의 조제를 혼합한 후 용액의 pH는 7.9였다. 준비된 용액은 각각 20ml씩 취하여 측정하고자 하는 온도(40, 50, 또는 60°C)로 가열한 후 효소 0.2ml를 첨가하였다. 시간이 10, 20, 30, 60, 120분 경과함에 따라 각 용액에 stop solution을 첨가하여 효소반응을 정지시킨 후 반응용액을 원심분리하여 상등액을 취하고 UV spectroscopy를 이용하여 이 용액의 흡광도를 측정한 후 다음의 식(Equation 1)에 의해 효소의 활성도를 산출하였다.

$$\text{Activity} = (b-a)/(t*c) \text{ --- Eq.1}$$

where, a: Absorption at time=0, b: Absorption at certain period of time, t: time(min.),
c: amount of enzyme(ml).

Table 1. Experimental Conditions for Measuring Enzyme Activity

	Enzyme(ml)	Substrate*(ml)	Fabric(g)	Surfactant(ml)	Total Weight
A	0.2	2	-	-	200
B	0.2	2	1	-	200
C	0.2	2	-	10	200
D	0.2	2	1	10	200

*1% polygalacturonic acid in 0.1M Glycin/NaOH buffer pH 10 with 0.68M CaCl₂

2-2. Dinitrosalicylic acid (DNS) assay

본 방법은 펙틴의 분해로 생성되는 reducing sugar를 DNS를 이용하여 발색시킨 후 570nm의 가시광선 영역에서 흡광도를 측정하는 방법으로 자외선 영역보다 재현성이 우수하다. 본 실험은 2-1의 방법으로 측정한 결과를 검증하고 또한 수돗물과 완충용액에서의 효소의 활성거동의 차이점을 관찰하기 위해 증류수를 이용하여 pH 6.5와 8.5의 완충용액을 제조하여 실험하였다. 본 방법으로 측정한 효소 활성도의 산출은 아래식(Equation 2)과 같다.

$$\text{Activity} = b/a*100 \text{ --- Eq.2}$$

where a: Absorption at time=0, b: Absorption at certain period of time

3. 결과 및 고찰

3-1. 반응조건에 따른 효소의 활성 변화

효소의 활성은 여러 가지의 주변 조건에 의해 크게 영향을 받는 것으로 나타났다. 보고된 바[4]와 같이 효소는 섬유와 함께 있을 때 그 안정성이 증가하는 것으로 나타났다 (Figures 1-3). 그러나, 계면활성제인 침투제는 효소에 영향이 가장 적다는 비이온계의 계면활성제임에도 불구하고 효소의 활성을 저해하는 것으로 나타났다.

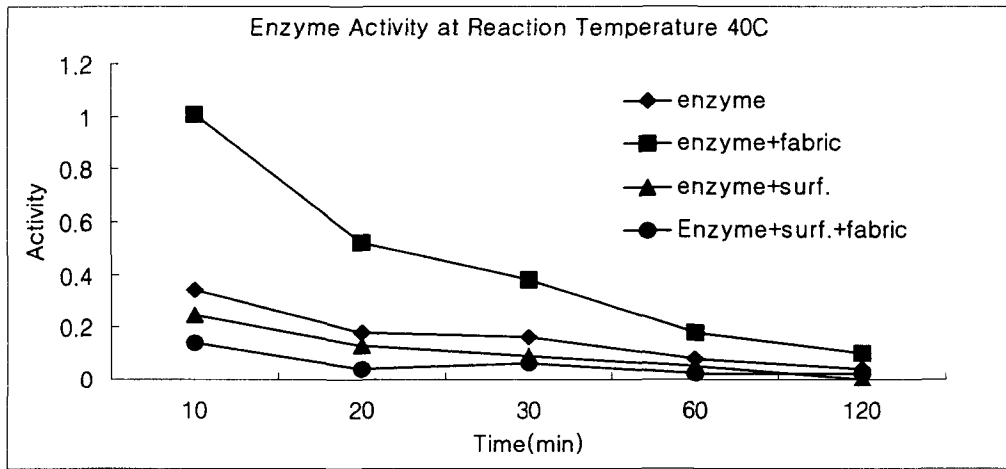


Figure 1. Enzyme activity in the Different Conditions at Temperature 40°C

3-2. 반응온도와 시간에 따른 효소의 활성변화

효소의 활성은 측정을 위해 주어진 반응온도에서는 큰 변화를 보이지는 않았다. 초기에는 낮은 온도(40, 50도)보다는 오히려 60도에서 높은 활성을 보였으나 120분 후에는 거의 같은 것으로 나타났다. 그러나 효소 활성은 시간이 지남에 따라 현저하게 떨어지는 것으로 보아 시간에 큰 영향을 받는 것으로 나타났다. 주어진 모든 온도범위에서 효소의 활성은 20분 이내에 거의 50% 정도의 활성을 잃는 것으로 보였다. 온도와 시간에 따른 효소 활성변화는 Figure 4에 나타내었다.

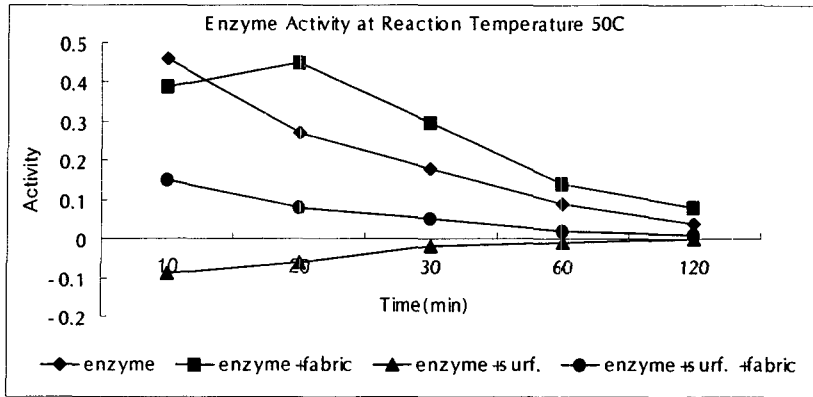


Figure 2. Enzyme Activity in the Different Conditions at Temperature 50°C

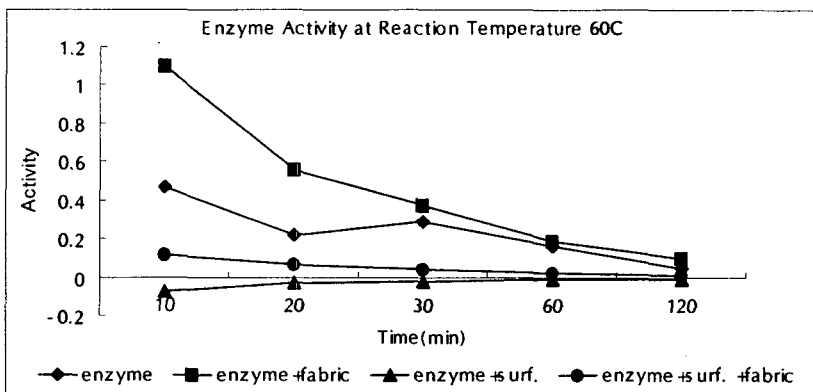


Figure 3. Enzyme Activity in the Different Conditions at Temperature 60°C

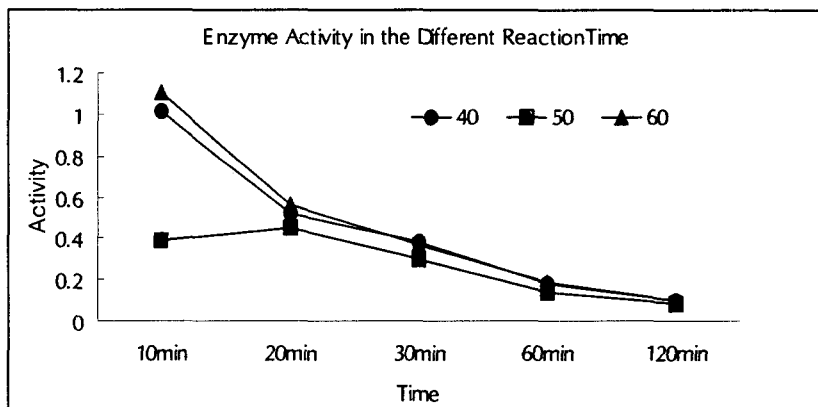


Figure 4. Enzyme Activity in the Different Reaction Time (enzyme+fabric)

3-3. 반응 pH와 온도에 따른 효소의 활성 변화

효소의 활성은 반응용액의 pH와 온도에 크게 영향을 받는 것으로 나타났다. 실험에 사용한 펙티나제의 최적 활성 pH인 8.5인 반응용액에서 효소 활성의 변화는 40도와 50도에서는 20%(120분 경과 후)에 지나지 않는 반면 60도에서는 70%에 달했다. 심지어 60도에서는 10분 경과 후 효소 활성이 초기의 30%밖에 남아있지 않음을 보였으며 그 이후에는 거의 변화가 없는 것으로 나타났다 (Figure 5). 중성 pH인 6.5에서 효소는 그 활성변화가 온도에 그다지 민감하게 작용하지 않는 것으로 보인다 (Figure 6).

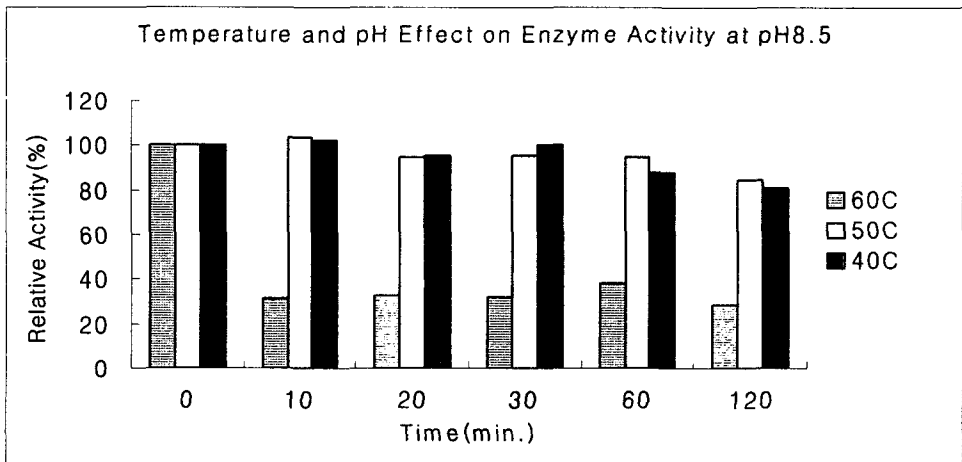


Figure 5. Temperature and pH Effect on Enzyme Activity at pH8.5

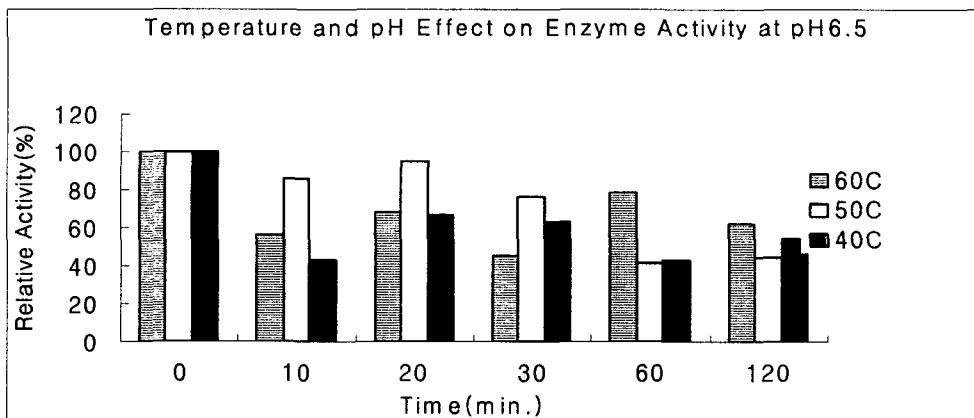


Figure 6. Temperature and pH Effect on Enzyme Activity at pH6.5

4. 결론

효소의 활성은 반응용액 중에 포함되어있는 다른 요소들에 의해서 크게 영향을 받는 것으로 나타났다. 특히, pH에 따른 시간의 변수에 의한 영향이 두드러지는데, 반응용액이 중성일 경우에는 효소 활성의 변화가 미온한데 반해, 알칼리 조건하에서는 시간이 지남에 따라 급속히 감소하는 것을 볼 수 있었다. 효소 활성이 급격히 감소한다는 것은 그 반응조건에서 효소 활성이 최대임을 나타내는데, 이때 정련이 단시간에 효율적으로 이루어진다면 그 pH가 적정 pH라고 할 수 있으나, 그렇지 않을 경우 반응 pH는 조절되어야할 것이다. 다시말하면, 효소의 최적활성 pH 또는 온도가 반드시 정련 공정의 최적 조건과 일치하지는 않는다는 것이다. 따라서 정련 공정의 최적 pH 및 온도는 효소의 활성도 추이를 참고로 하되, 정련 효과를 최대로 얻을 수 있는 조건에서 확립되는 것이 바람직하다.

5. 참고문헌

- 1) J. Liu, Presentation at NOVO Turkey, (2003).
- 2) V. G. Yachmenev, E.J. Blanchard, A.H. Lambert, *Ultrasonics*, 87(2004).
- 3) S. N. Gummadi and T. Panda, *Process Biochemistry*, 987(2003).
- 4) Novozymes Analytical Method LUNS# 2002-18623-01
- 5) M. F. Chaplin, *Carbohydrate Analysis: A Practical approach*, 3(1995).
- 6) I.R. Hardi and J.Kim, *Colourage Annual*, 43(2000).