

목질분해효소에 의한 고지의 재활용 기술연구(제2보)*¹

- 조효소가 폐지의 표백 특성 및 종이의 물성에 미치는 영향 -

양재경*² · 장준복*³ · 엄태진*⁴

Studies on the Recycling Technology of the Waste Paper with Wood Degradable Enzyme(II)*¹

- Effect of Crude Enzyme on the Bleaching Characteristics and Physical
Properties of Waste Paper -

Jae-Kyung Yang,*² Jun-Pok Chang*³ and Tae-Jin Eom*⁴

ABSTRACT

Crude enzymes of *Trichoderma viride* and *Phanerochaete chrysosporium* were evaluated for their effect to brightness and physical properties of recycled pulp from newspaper and corrugated container board.

The brightness of recycled pulp from newspaper increased with crude enzymes from *Trichoderma viride* and *Phanerochaete chrysosporium*.

The brightness of recycled pulp of corrugated container board increased with crude enzyme from *Phanerochaete chrysosporium*, but decreased with crude enzyme from *Trichoderma viride*.

The Δ brightness with chemical bleaching of crude enzyme treated pulp was lower than that of heat killed enzyme treated pulp, but the final brightness of pulp was increased.

Modification of recycled paper with crude enzymes can result in a substantial increase in physical properties with little loss in pulp freeness.

1. 서론

국내의 펄프 자급율은 현재 45.8%에 불과하고, 정보화의 급속한 진행에 따라 종이의 수요량은 급격히 증가하고 있다. 또한 종이 수요량의 증가와

함께 폐지의 발생량도 비례적으로 발생하고 있지만, 국내 폐지 자급율은 저조한 실정으로 상당부분을 수입에 의존하고 있다. 이와 더불어 국내의 펄프·종이 산업에 있어서 원료 수급대책 방향으로 폐지의 최대 활용은 그 최종단계로서 인식될 수밖에 없다.¹⁾

*¹ 본 연구는 1996년도 한국학술진흥재단의 국내 박사후 연수지원비에 의해 수행되었음.

*² 경북대학교 농업과학기술연구소, Institute of Agriculture Science & Technology, Kyungpook National University, Taegu 702-701, Korea.

*³ 중부대학교 자연과학대학 College of Natural Science, Joongbu University, Kumsan 312-940, Korea.

*⁴ 경북대학교 농과대학 College of Agriculture, Kyungpook National University, Taegu 702-701, Korea.

폐지는 한번 사용한 원료이므로 목재섬유 이외의 이물질이 다량 포함되어 있을 뿐 아니라, 폐지를 구성하고 있는 목재섬유는 시간에 따른 열화로 인하여 강도저하 및 표백성능 저하가 나타난다.²⁾

따라서 폐지의 재활용을 효율적으로 하기 위해서는 폐지를 구성하는 목재섬유의 표백성능 및 물성을 향상시키는 것이 중요하다.

최근 폐지 원료의 재활용공정에 소요되는 기계적 에너지 및 약품의 양을 절감하려는 연구 노력의 일환으로 자연계에 존재하는 미생물 또는 효소를 폐지의 재활용 공정에 적용시키려는 연구³⁻⁵⁾가 주목 받고 있다.

한편, Kirk 등⁶⁾이 크라프트 펄프에 endoxylanase를 적용한 결과, 표백약품이 감소되었다는 연구를 시작으로 하여 hemicellulase를 이용한 펄프의 표백성능 개선에 관한 연구가 많이 진행되고 있다. Paice 등⁷⁾은 크라프트 펄프에 hemicellulase를 처리함으로써, 표백약품을 절감할 수 있었다고 하였으며, 이때 mannanase보다는 xylanase가 더 효과적이라고 하였다. Xylanase 및 mannanase등과 같은 hemicellulase 계열의 효소가 펄프의 표백성능을 향상시키는 이유로는 펄프 섬유중의 헤미셀룰로오스를 제거함으로써, 섬유표면에 표백약품의 접근이 용이해진다는 가설과 섬유중의 헤미셀룰로오스와 리그닌사이의 결합을 붕괴함으로써, 셀룰로오스 matrix로부터 리그닌과 발색단을 제거된다는 가설이 현재 유력하다.^{8,9)}

현재까지 펄프표백에 관련된 효소적용 연구는 대부분 hemicellulase 계열의 효소에 관한 연구가 대부분을 이루고 있으며, 리그닌 분해 관련 효소를 이용한 펄프 표백성능 개선 연구는 소수에 지나지 않는다.

본 연구는 cellulase 및 hemicellulase를 분비하는 *Trichoderma viride* 이외에 peroxidase 및 laccase를 분비하는 *Phanerochaete chrysosporium*으로 단리된 조효소가 재활용 펄프의 표백 및 물성에 미치는 영향을 검토할 목적으로 전보¹⁰⁾에 보고한 *Trichoderma viride* 및 *Phanerochaete chrysosporium*으로부터 단리된 조효소를 사용하여 폐신문지 및 폐골판지의 표백 특성 및 물성변화를 검토하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 폐지펄프의 제조

폐지는 미국으로부터 수입되어 1년 이상 경과된 폐신문지(AONP) 및 폐골판지(AOCC)를 사용하였다.

손으로 잘게 찢은 폐지(2×2cm²)를 잘 혼합한 후, 펄프 농도 4%가 되게 50℃의 물을 첨가하여 저농도 펄퍼중에서 30분간 해리하였다. 해리된 펄프는 여과된 수돗물을 이용하여 sweco screen (150mesh)상에서 세척하였다. 해리 및 세척에 있어서 어떠한 약품도 첨가하지 않았다.

2.2 폐지펄프의 조효소처리

조효소는 전보¹⁰⁾에서 보고한 바와 같이 *Trichoderma viride* 및 *Phanerochaete chrysosporium*으로부터 단리한 조효소액을 사용하였다.

조효소액 300ml를 폐지펄프 60g과 혼합한 후, 증류수를 첨가하여 펄프농도 2%가 되게 조절하였다. 이때 조효소 투입량은 전건펄프중량에 대하여 조효소액중에 존재하는 단백질량을 기준으로 하였다. 혼합액은 100rpm의 진탕배양기를 사용하여 처리온도 및 시간, 조효소 투입량을 변화시키면서 처리하였다. 처리된 폐지펄프는 5l의 냉수로 세척하여 회수하였다.

대조실험으로서 80℃에서 3시간 동안 처리하여 실험시킨 조효소액을 폐지펄프 60g과 혼합하여 동일한 조건으로 처리하였다.

2.3 폐지펄프의 표백 및 열화

조효소 처리된 폐지펄프를 Table 1과 같은 조

Table 1. Bleaching conditions of pulp

AONP	AOCC
2% NaOH, 0.05% MgSO ₄ , 2% H ₂ O ₂ , 3% Na ₂ SiO ₃ , 0.4% DTPA 40℃, 1hr.	10% NaClO 60℃, 1hr.

건으로 표백하고, 이온교환수를 이용하여 충분히 세척한 다음, 수초지를 제조하여 105℃의 건조기에서 8일동안 열화시켰다.

2.4 폐지펄프의 백색도 및 물성측정

조효소 처리된 폐지펄프 및 표백, 열화된 폐지펄프는 TAPPI standard T452 om-83에 의거하여 백색도를 측정하였다. 또한 조효소 처리된 폐지펄프의 겔보기 밀도(TAPPI standard T411), 파열강도(TAPPI standard T403), 인장강도(TAPPI standard T494) 및 여수도(TAPPI standard T227 om-92)를 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 조효소처리한 폐지펄프의 백색도

세척한 폐신문지 및 폐골판지 펄프를 *Trichoderma viride* 및 *Phanerochaete chrysosporium* 으로부터 분리된 조효소로 처리했을 때, 표백 온도에 따른 폐지펄프의 백색도 변화를 Fig. 1에 나타내었다.

Phanerochaete chrysosporium 으로부터 분리된 조효소를 사용하여 폐신문지 및 폐골판지를 처리했을 때, 처리온도 40℃에서 백색도 개선효과가 가장 우수하였다.

Trichoderma viride 조효소로 폐신문지를 처리했을 때 백색도 향상을 나타내는 온도범위는 40~50℃로, *Phanerochaete chrysosporium* 조효소 보다 온도 적용범위가 넓었다. 이는 *Trichoderma viride* 가 분비하는 조효소의 활성온도 범위가 *Phanerochaete chrysosporium* 조효소보다 넓다는 것을 의미하고 있다. 또한 40℃에서 조효소처리된 폐신문지에 있어서, *Phanerochaete chrysosporium* 조효소가 *Trichoderma viride* 보다 높은 백색도를 나타낸 것은 cellulase 및 hemicellulase에 의한 백색도 개선효과 때문으로 추측된다.¹¹⁾

한편 폐신문지에서는 두가지 조효소 처리에 의한 백색도 향상이 나타났지만, 폐골판지에서는 *Phanerochaete chrysosporium* 으로부터 분리된 조효소 처리만이 백색도 향상을 나타냈다.

이는 리그닌 함량이 비교적 많은 기계펄프로 구성된 폐신문지에서는 *Trichoderma viride* 및 *Phanerochaete chrysosporium* 조효소중에 함유된 탄수화물 분해효소, 특히 xylanase에 의한 xylan-발색단부분 탈리와 *Phanerochaete chrysosporium* 이 분비하는 리그닌 산화효소에 의한 리그닌의 부분적 분해효과¹¹⁾ 때문에 백색도가 향상되었다고 추측된다.

즉 기계펄프에서는 cellulase 및 xylanase가 백색도 상승에 기여한다고 판단되지만, 폐골판지 펄프 즉, 화학펄프에서는 그다지 효과가 없다는 사실을 추측할 수 있는데, 이는 헤미셀룰로오스와 결합된 리그닌(발색단)의 양적 차이 때문¹¹⁾인 것으로 생각된다.

Fig. 2에서는 표백시간에 따른 폐지펄프의 백색도 변화를 나타낸 것으로, 폐신문지 및 폐골판지 모두 60분 처리에서 가장 높은 백색도를 나타내었다.

橋燐 등¹²⁾은 기계펄프를 균체의 효소처리했을 때, 반응 3시간만에 백색도가 최고를 나타냈다고 보고하였는데, 본 연구결과보다 짧은시간에 최고

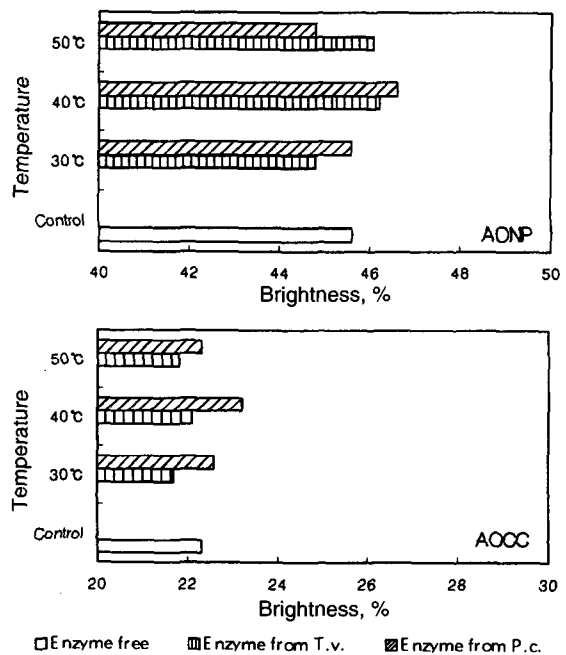


Fig. 1. Effects of reaction temperature on the brightness of the enzyme treated AONP and AOCC pulp(0.5% enzyme, 1hr.).

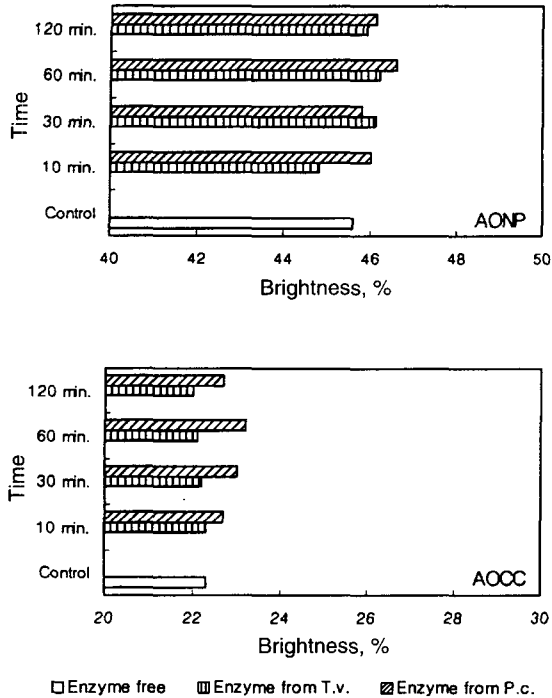


Fig. 2. Effects of reaction time on the brightness of the enzyme treated AONP and AOCC pulp(0.5% enzyme, 40 °C).

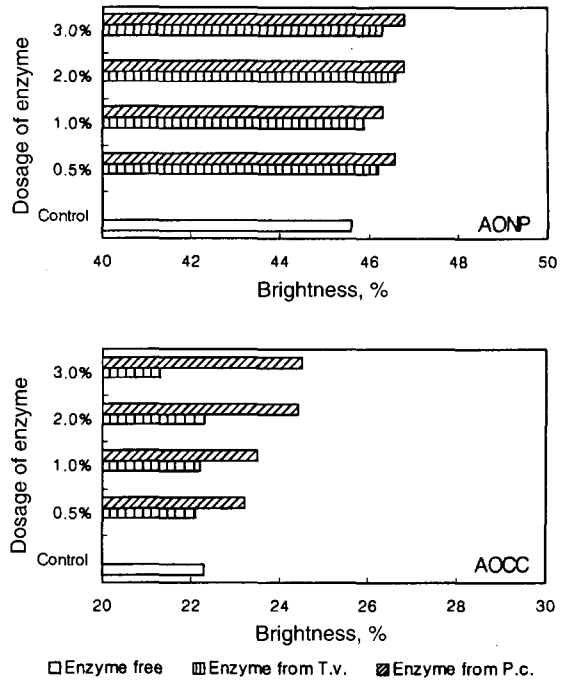


Fig. 3. Effects of enzyme dosage on the brightness of the enzyme treated AONP and AOCC pulp(60min., 40 °C).

의 백색도를 나타내었다. 이는 효소 투입량 차이에 따른 기질과 효소사이의 반응속도 때문인 것으로 생각된다.

조효소 투입량에 따른 폐지펄프의 백색도 결과를 Fig. 3에 나타내었다.

폐신문지의 경우, 두가지 조효소 모두 투입량이 0.5%를 초과하더라도 폐지펄프의 백색도는 큰 변화가 없었다. 그러나 *Phanerochaete chrysosporium* 조효소로 처리한 폐골판지에서는 효소단백질 투입량이 2.0%이상에서 최대의 백색도를 나타냈다.

엄 등⁵⁾이 보고한 균체처리한 펄프의 백색도 결과와 비교해 볼 때, 균체외 효소 즉, 단리 조효소 처리는 균체처리보다 단시간에 펄프의 백색도 상승효과를 기대할 수 있다는 것을 알 수 있다. 또한 백색도 개선효과는 거의 비슷한 경향으로 나타났다.

조효소 처리된 펄프의 화학표백에 의한 백색도 상승율(Δ brightness)을 보면 Table 2와 같다.

무처리 폐지펄프의 Δ brightness는 각각 6.6%, 10.0%인데 비하여, 조효소처리한 폐지펄프의 Δ brightness는 폐신문지의 경우 7.0%,

Table 2. Δ Brightness and final brightness of bleached pulp(%)

Enzyme	AONP		AOCC	
	Δ Brightness	Final brightness	Δ Brightness	Final brightness
Control	6.6	52.2	10.0	32.3
<i>Trichoderma viride</i>	7.0	53.2	-	-
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	5.5	52.1	9.2	33.6

5.5%, 폐골판지의 경우 9.2%로 큰 차이가 없었다. 이러한 결과는 엄 등⁵⁾이 보고한 균체처리 폐지펄프의 Δbrightness 결과와 비교해보면, 조효소처리 폐지펄프의 Δbrightness는 상당히 향상되었다고 할 수 있다. 즉, 화학표백에 의한 폐지펄프의 백색도 상승을 측면에서 볼 때, 목재부후균의 균체처리보다 목재부후균이 분비하는 조효소처리가 더 유리하다는 사실을 본 연구 결과로서 확인 할 수 있었으며, 이러한 원인은 균체처리시 펄프중에 흡착된 균체 성분에 의한 H₂O₂ 및 ClO₂의 급격한 분해 때문이라고 판단된다.

조효소처리한 폐지펄프의 표백후 최종 백색도는 조효소처리하지 않은 대조구에 비해 약 1.0-1.3point 향상되었다. 이는 Bajpai 등¹³⁾이 시판 xylanase로 처리한 대나무 크라프트 펄프를 표백했을때, 최종 백색도가 0.9-1.5point 향상되었다는 연구결과와 일치하고 있다.

따라서 조효소처리한 펄프의 표백성능을 향상시키기 위한 새로운 표백방법의 연구도 필요할 것으로 생각된다.

3.2 조효소처리한 폐지펄프의 여수도 및 물성

조효소에 의한 폐지펄프의 여수도 및 물성변화를 Fig. 4에 나타내었다.

엄 등⁵⁾의 결과에 따르면 폐지펄프를 균체 처리했을 때, 처리시간이 길어질수록 여수도는 감소하는 경향이 현저하였지만, 조효소처리한 폐지펄프의 여수도는 대조구에 비해 큰 차이가 없었다. 이는 처리시간에 따른 폐지펄프의 가수분해 정도의 차이 때문¹⁴⁾으로 추측된다.

조효소처리한 폐신문지의 물성은 대조구에 비해 약간 저하하는 경향이 나타났지만, 폐골판지에서는 물성이 대조구에 비해 현저히 상승되었다.

폐지의 종류에 따른 물성차이는 원료펄프의 성상과 관계가 있다고 추측된다. 즉 폐신문지 펄프는 리그닌이 다량 함유되어 있기 때문에 효소가 섬유에 침투하여 반응하기가 어렵지만, 폐골판지의 경우 섬유에 존재하는 리그닌이 상대적으로 적기 때문에 효소의 침투 및 반응이 쉽게 이루어질 수 있었기 때문으로 판단된다.

한편 *Phanerochaete chrysosporium* 조효소로 처리한 폐골판지의 물성 향상은 근본적으로는

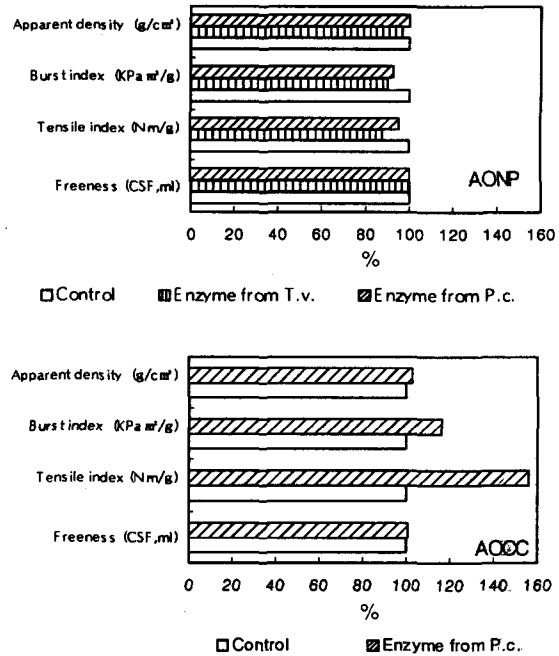


Fig. 4. Effects of enzyme treatment on AONP and AOCC pulp properties.

cellulase 및 xylanase에 의한 섬유표면의 보풀 발생으로 인한¹⁵⁾ 섬유간의 결합이 개선되었기 때문으로 생각되지만, 여기에 부가적으로 *Phanerochaete chrysosporium*가 분비하는 리그닌 관련 효소가 작용하여 상승효과를 나타냈다고 생각된다. 이와같은 사실은 목재 부후균이 분비하는 hemicellulase 및 ligninase와 같은 목질분해효소가 폐지섬유 표면에 작용하여 섬유의 피브릴화를 유도하는 이른바 “enzyme-beating” 효과¹⁶⁾에 의한 것으로서 결과적으로 섬유간의 수소결합을 증가시키게 되는 것으로 생각된다.

Bhardwaj 등¹⁷⁾이 상업용 효소인 pergalase(cellulase+hemicellulase)를 폐지섬유에 대해 0.1%-0.2%의 농도로 투입하여 30-60분간 처리했을 때, 배수성이 약 10%이상 상승되었다. 이러한 결과는 본 연구 결과와 일치하지 않는데, 이에 대한 원인으로서는 폐지에 대한 효소투입 농도(2.0%)가 높아서 여수도 변화가 없었다고 추측된다.

3.3 열화된 폐지펄프의 백색도

단리 조효소 처리된 폐지펄프를 표백 후 열화시켰을 때 백색도 변화를 Fig. 5에 나타냈다.

폐신문지 및 폐골판지에서는 조효소처리 유무와 관계없이 열화에 따른 백색도는 동일한 비율로 감소되었다. 또한 조효소처리 폐골판지의 열화전 백색도는 대조구에 비해 1.5point 높았는데 이러한 백색도 차는 열화후기까지 유지되었다. 또한 열화 시간에 따라 백색도 변화를 살펴보면, 열화초기에는 백색도 저하가 나타났지만, 그 이후에는 백색도가 거의 일정하게 나타났다. 이는 *Phanerochaete chrysosporium* 으로부터 분비되는 ligninase에 의해서 폐지펄프중의 리그닌 발색단이 일부 제거됨으로서, 열화중에 리그닌의 quinoid구조 형성에 따른 착색단 발생이 억제되었음을 추측할 수 있다.

山下 등¹⁸⁾은 백색부후균으로 처리한 펄프를 열화하면 균에서 분비하는 효소에 의해 변색억제 작용이 나타났다고 하였다. 이러한 결과를 기초로

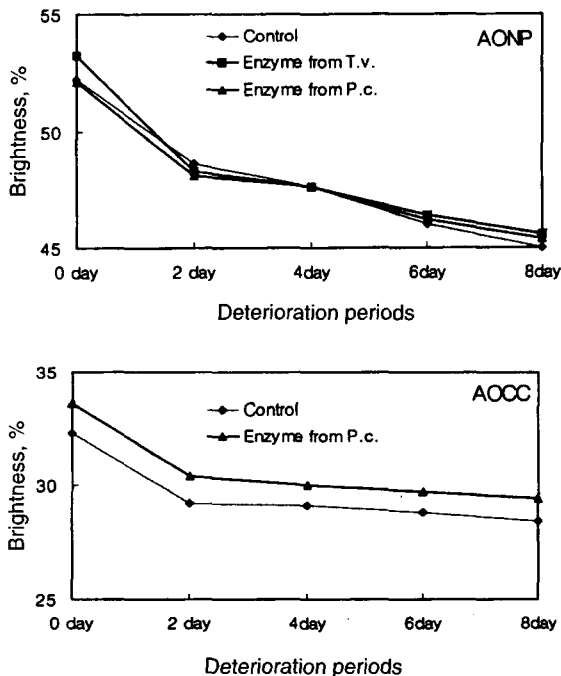


Fig. 5. Changes of brightness of the enzyme treated AONP and AOCC pulp with deterioration periods.

할 때, 효소처리에 의해 향상된 펄프의 백색도는 열화동안에 부분적으로 안정하다는 사실을 확인할 수 있다.

4. 결론

폐신문지 및 폐골판지의 탈목펄프를 *Trichoderma viride* 및 *Phanerochaete chrysosporium* 으로부터 단리된 조효소액으로 처리하여 백색도 및 물성변화를 분석한 결과 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

1. *Phanerochaete chrysosporium* 으로부터 단리된 조효소에 의해서 폐신문지 및 폐골판지 펄프의 백색도를 상승시킬 수 있었다.
2. *Trichoderma viride* 로부터 단리된 조효소는 폐신문지 펄프의 백색도 개선에 효과가 있었지만, 폐골판지에서는 효과가 없었다.
3. 폐지펄프의 백색도 향상을 위한 단리 조효소 최적 처리조건은 40°C, 60분이었으며, 최적 효소투입량은 폐신문지의 경우 0.5% 이상, 폐골판지에서는 2.0% 이상이었다.
4. 단리 조효소 처리된 폐지펄프의 화학표백후 Δ brightness는 대조구에 비해 약간 저조하였지만, 최종 백색도는 상승하였다.
5. 단리 조효소 처리된 폐지펄프의 여수도는 거의 변화가 없었지만, 폐골판지 펄프의 기계적 성질은 상당히 개선되었다.
6. 열화에 따른 폐지펄프의 백색도는 대조구와 거의 같은 비율로 저조하였다.

인용문헌

1. 신동소, 고지리사이클링, pp. 16-17, 서울대학교 출판부(1995).
2. 古紙再生促進センター, 古紙再生處理にかかれる基礎的技術に関する調査報告書, pp. 141-149, 古紙再生促進センター(1989).
3. 嚴泰振, 吳世均, 酵素による新聞古紙の再生, 紙パ技協誌 45(12):81-86(1991).
4. 이중명, 양재경, 임태진, 먹물버섯이 분비하는 목질 섬유소 분해효소에 의한 고지의 재활용, 한국 균학회 창립 25주년 기념 추계학술대회 및 정기총회 요지집:29-30(1997).

5. 임태진, 양재경, 목재부후균에 의한 재생펄프의 표백 및 개질, 펄프·종이기술 25(4):53-59(1993).
6. Kirk, T.K., Chang, H.M., *Biotechnology in pulp and paper Manufacture*, pp.145-151, Butterworth-Heitmann(1990).
7. Paice, M., Bernier, M. and Jurasek L., Viscosity enhancing bleaching of hardwood kraft pulp with xylanase from a cloned gene, *Biotechnol.Bioeng.*, 32:235-239(1988).
8. Kantelinen, A., Hortling, B., Sundquist, J., Linko, M. and Viikari, L., Proposed mechanism of the enzymatic bleaching of kraft pulp with mannanases, *Holtzforschung* 49:60-68(1993).
9. Suurnkki, A., Heijnesson, A., Buchert, J., Viikari, L. and Westermark, U., Chemical characterization of the surface layers of unbleached pine and birch kraft pulp fibers, *J. Pulp Paper Sci.* 22:J43-J47(1996).
10. 양재경, 이중명, 임태진, 목질분해효소에 의한 고지의 재활용 기술연구(제1보), 펄프·종이기술 29(1):43-51(1997).
11. Kirk, T.K. and Jeffries, T.W., *Enzymes for pulp and paper precessing*, pp.2-14, American chemical society(1996).
12. 橋燐 郎, 中野明美, 大久保克美, 住本昌之, 機械パルプの微生物處理に關する研究(第4報), 紙・技協誌 46(3):68-76(1992).
13. Bajpai, P. and Bajpai, P., Application of xylanases in prebleaching of bamboo kraft pulp, *Tappi Journal* 79(4):231-234(1996).
14. Jackson, L.S., Heitmann, J.A. and Joyce, T.W., Enzymatic modifications of secondary fiber, *Tappi Journal* 76(3):147-154(1993).
15. Nakano, S., Komurasaki, K. and Kimura, Y., Effect of enzymatic treatment on the morphology of cotton fibers shattered by dry process, *Sen'i Gakkaishi* 53(3):101-106(1997).
16. Noe, P., Chevalier, J., Mora, F. and Comtat, J., Action of xylanase on chemical pulp fibers, *Journal of wood chemistry and technology* 6(2):167-184(1986).
17. Bhardwaj, N.K., Bajpai, P. and Bajpai, P.K., Use of enzymes to improve drainability of secondary fibers, *Appita* 48(5):378-380(1995).
18. 山下民治, 橋燐 郎, 大島喜八郎, 住本昌之, 機械パルプの菌體外酵素による漂白, 第33回リグニン討論會講演要旨集:149-152(1988).