

# 신규 목질 분해 효소의 특성 및 폐지의 탈묵

이중명<sup>1)\*</sup> · 임태진<sup>1)</sup> · 박용현<sup>2)</sup> · 박한오<sup>2)</sup> · 조병목<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>경북대학교 임산공학과 · <sup>2)</sup>(주)바이오니아 · <sup>3)</sup>강원대학교 제지공학과

## 1. 서론

펄프·제지공정에 있어서 미생물 또는 효소를 사용하는 생물학적 기법의 도입 및 적용은 지금까지 일반적인 산성 cellulase계 효소로서 반응 최적 pH가 5~7 즉 약산성인 점이 현장 적용상 문제점으로 지적되고 있다. 이는 제지공정이 공통적으로 pH 9~10의 alkali 영역에서 운영되고 있기 때문에 환경 친화형 제지공정 개선을 목적으로 하기 위해서는 제지공정 line에 도입되는 용수의 pH를 바꾸어 주거나 중성상태에서 고지를 해섬해야 하는데 이를 위해서는 추가적인 비용과 동력이 소요된다.

본 연구는 알칼리성 cellulase을 분비하는 균주를 확보하고 알칼리성 cellulase의 효소학적 특성을 기존 상업용 효소의 것과 비교·검토하여 신규 효소의 제지공정에의 적용 가능성을 모색함에 목적이 있다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1 공시 균주 및 재료

본 실험에 사용된 균주는 단양지방의 두엄에서 분리된 pH9 부근의 알칼리영역에서 왕성한 생육을 보이는 미동정의 곰팡이(fungi)와 세균(*Bacillus* 속으로 추정)을 사용하였다. 탈묵용 재료로는 ONP의 경우 Y일보에서 발행한 6개월 이상의 동일한 페이지의 신문지와 동일한 toner 면적을 갖는 MOW을 손으로 2×3cm로 절단한 시료를 사용하였다.

### 2.2 사용 배지

배양최적화를 위해서 우선적으로 다양한 탄소원 및 질소원으로 구성된 4종류의 seed culture을 실험하여 선별된 최적 main culture의 배지조성을 Table 1.에 나타내었다.

Table 1. Composition of main culture medium for *Bacillus* sp. and fungi

<i>Bacillus</i> sp.	Fungi
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 2.5g 100x trace 10ml Yeast extract 5g Tryptone 5g Wheat bran 5g	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 15g , NH <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 5g 100x trace 10ml, CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O 0.8g Tween 80 0.5g, Yeast extract 0.3g Bacto-peptone 0.75g, Solka floc 10g Glucose 10g

### 2.3 Cellulase의 생산

각각의 main culture 배양액에서 일정시간 발효된 효소액을 원심분리한 후 상정액만 수집하여 유기용제 침전법을 이용하여 단백질을 수집한 후 48시간 동결건조한 후 4℃에 보관한 것을 실험에 사용하였다.

### 2.4 효소활성

CMCase, FPase 활성은 DNS법에 의해 측정하였다. 단백질은 Lowry법에 의해 측정하였다.

### 2.5 탈묵

ONP 및 MOW를 각각 4% 농도로 50℃, pH 9로 조절된 표준 해리기에 대조구로서 NaOH와 0.4, 1, 4IU의 효소를 투입시켜 30분 동안 해리 및 효소반응시킨 지료를 1%로 희석시킨후 flotation에 의해 탈묵하였다.

### 2.6 물성 측정

Flotation 전후에 백색도를 측정하기 위해 Tappi법에 의거하여 brightness 측정 pad를 제작하였고, flotation시 reject도 수집하여 정량하였다. 또한 accept된 지료로 수초지를 제작하여 그 물리적 성질을 판단하였다. 탈묵효과는 백색도 및 image analysis에 의한 잔존 잉크량으로 평가하였다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1 효소활성 및 수율

Table 2. Results of cellulase purification in a 30L fermentor at pH 9

Strains	Culture vol.	CMCase (U/ml)	Weight of cellulase powder(g)	CMCase (U/g)	Recovery (%)
<i>Bacillus</i>	15L	2.24	21	1,500	93.7
Fungi	15L	6.1	75	700	57.4

Table 2는 main culture 배양액으로부터 얻어진 효소의 활성 및 수율을 나타낸 것이다. *Bacillus*의 경우 pH 5, 7, 9 순으로 높은 활성을 나타내었지만, Fungi의 경우는 pH9가 pH7보다는 높은 활성을 나타내는 것으로 보아 fungi가 분비하는 효소는 산성과 알칼리성에서 모두 작용할 수 있는 두종류의 cellulase가 분비되는 것으로 예상된다. 하지만 fungi의 경우 cellulase의 회수율이 50%대를 유지하고 있기 때문에 효소분말을 생산시 효소활성의 저하가 발생한 것으로 추측된다.

#### 3.2 단백질 함량

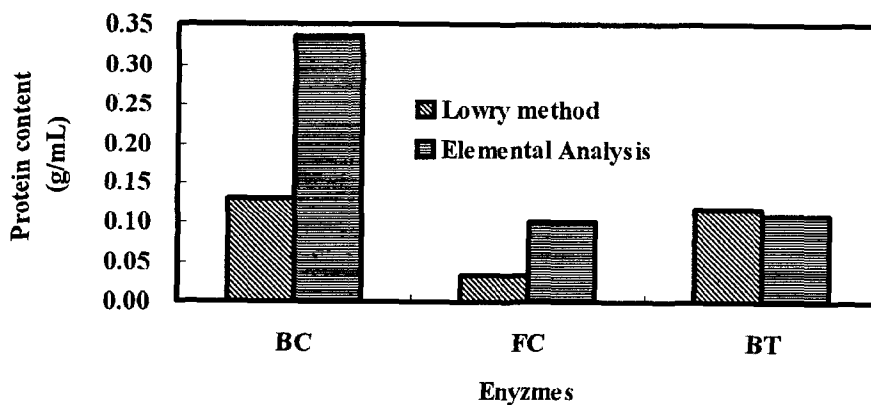


Fig.1 Protein content of enzymes

Figure 1은 원소분석 및 Lowry법에 의해 *Bacillus*(BC)와 *Fungi*(FC) 및 상업용으로 시판되고 있는 Denimax BT(BT)의 단백질 함량을 측정된 결과이다. BC 및 BT의 경우보다 FC의 단백질 함량이 낮은 것을 알 수 있다.

### 3.3 온도 안전성

각 효소를 pH 9에서 온도 안전성을 평가하기 위해 40℃~60℃에서 8시간 정치시켜 CMCase 및 FPase 효소활성을 측정하였다(Fig. 2 ~ Fig. 7). BC의 경우는 60℃에서 온도 안정성이 급격히 떨어지는 반면 FC의 경우는 상업용 효소인 BT와 비슷한 경향이 있고, BC보다는 FC가 온도 안정성이 큰 것을 알 수 있다.

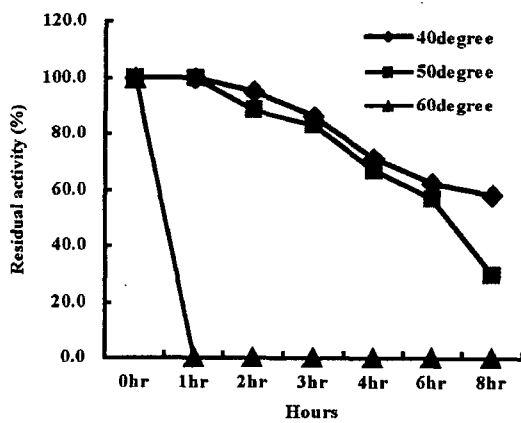


Fig.2 Thermal activity of CMCase of BC

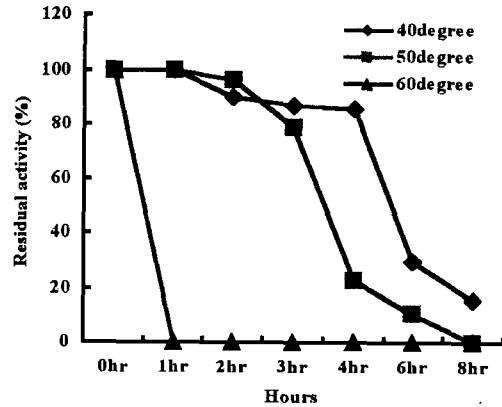


Fig. 3 Thermal stability of FPase of BC

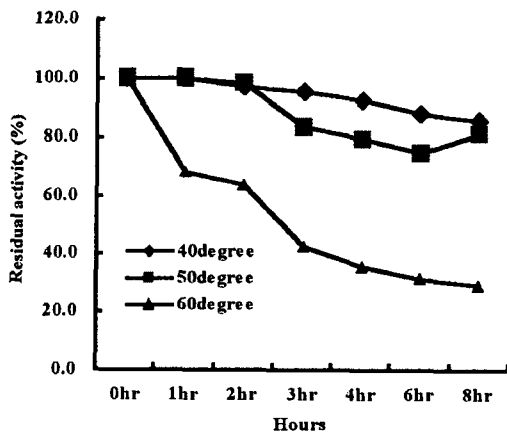


Fig. 4 Thermal stability of CMCase of FC

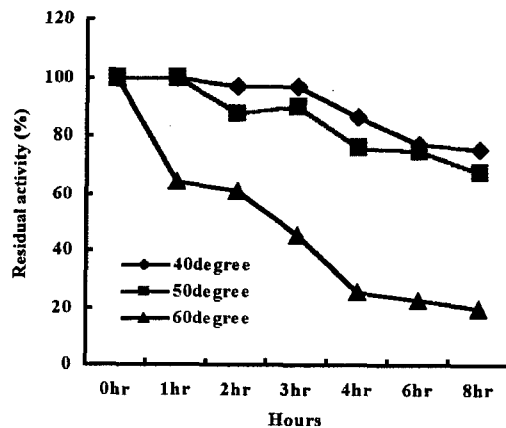


Fig. 5 Thermal stability of FPase of FC

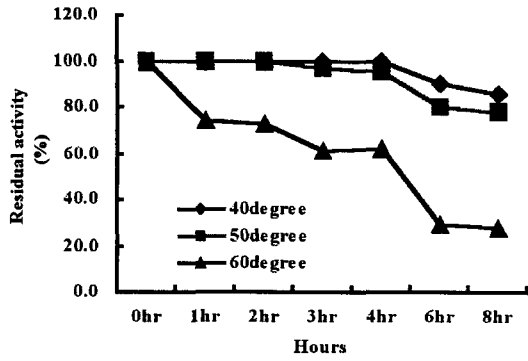


Fig. 6 Thermal stability of CMCase of BT

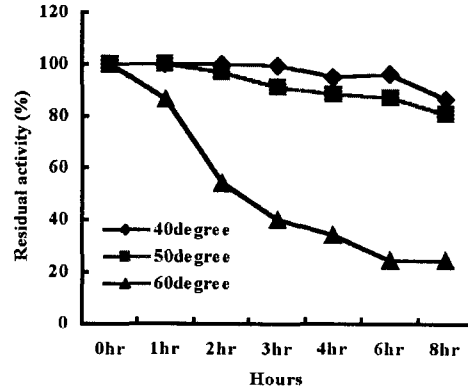


Fig. 7 Thermal stability of FPase of BT

### 3.4 백색도

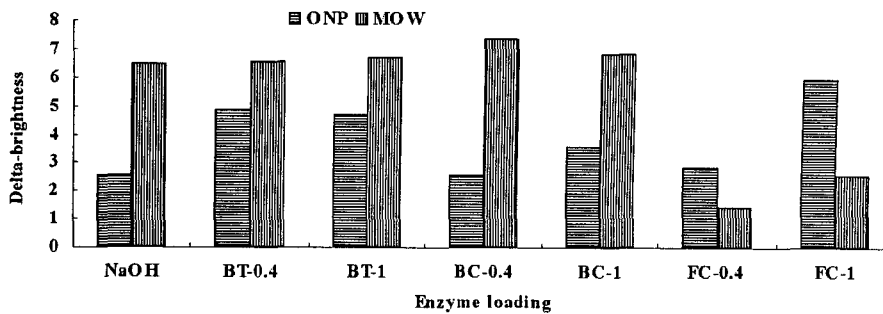


Fig 8. Brightness gain of ONP and MOW with each preparation enzymes (FC: Denimax BT, BC: Bacillus, FC: Fungi)

ONP의 경우 BT에 비해 FC가 백색도 증가치가 높아지지만, MOW의 경우는 BC가 높게 나타내었다.

### 4. 결론

다양한 배지조건을 사용하여 *Bacillus* 및 *fungi*에서 얻어진 효소액을 정제 시킨 결과 *Bacillus* 유래의 효소는 수율이 90% 정도 였지만, *fungi* 유래의 효소는 50%로 낮을 것을 알 수 있었고, 보다 높은 수율을 얻기 위해 좀더 추가적인 실험이 요구된다.

또한 생산된 효소를 상업용 효소와 비교시 BC 및 FC 모두 ONP 및 MOW의 탈묵에 있어 백색도 향상 및 강도적 측면에서 경쟁력이 있다고 판단된다.