

## *Trichoderma viride*로부터 분리한 Endoglucanase 및 Exoglucanase가 탈묵 펄프의 백색도 및 물리적 강도에 미치는 영향

†김 동 원 · 정 영 규 · 장 영 훈 · 손 기 향  
충북대학교 자연과학대학 화학과

### Effects of Endoglucanase and Exoglucanase from *Trichoderma viride* on Brightness and Physical Properties of Deinked Old Newsprint

Dong Won Kim<sup>†</sup>, Young Kyu Jeong, Young Hun Jang, and Ki Hyang Son

Department of Chemistry, College of Natural Sciences, Chungbuk National University,  
Cheongju, Chungbuk 361-763, Korea

#### ABSTRACT

Old newsprint was deinked with endoglucanase, exoglucanase and their various compositions from *Trichoderma viride*. The yield decreased with an increase in enzyme concentration. Especially, it was the lowest in the treatment of endo-exo mixture(1:1). It may be regarded as a synergistic actions of the cellulase components. The brightness was the highest in pulp deinked with endo-exo mixture(1:1). Maximum brightness was observed when 0.5mg/mL of the endo-exo mixture was used. The physical strength increased with increasing concentration in exoglucanase. But, it decrease with increasing concentration in endoglucanase and endo-exo mixture(1:1). Also, we investigated the yield, brightness and physical strength of endoglucanase in combination with exoclucanase(12:1, 8:1, 4:1, 1:1, 1:4, 1:8, 1:12). Maximal deinking conditions, obtained at a specific optimal ratio of endoglucanase to exoglucanase are as follow ; 12:1 for yield, 12:1 for brightness, 4:1 for tensile strength, 12:1 for bursting strength, and 8:1 for tearing strength. These results indicated that the deinking depended largely upon the action of endoglucanase. Exoglucanase was occupying more than 60% of the total crude cellulase contents. Therefore, the most effective deinking must repress the action of exoglucanase.

#### 서 론

문화의 발달에 따라 종이의 생산량이 증가하게 되면서 고지의 이용율도 매년 증가하고, 고지의 이용가치도 증가되고 있다. 현재 우리 주위에는 종이를 이용한 제품들이 급격히 증가하고 있으며, 이러한 것들이 재생처리되지 않은 채 그대로 버려지고 있는

것이 커다란 사회문제로 되고 있다. 특히 이들 고지 중 25%가 신문고지이므로 신문용지의 재사용은 특히 중요하다. 신문용지를 지표로 재사용하기 위해서는 탈묵 공정을 거쳐야 하는데, 현재의 탈묵 방법에서는 다량의 가성소다와 계면활성제가 첨가되므로 심각한 수질 오염은 물론이거니와, 미세섬유량의 증가 및 섬유질의 절단에 따른 섬유강도 하락이 문제시 되고 있다. 또한, 고지의 탈묵과정에 있어서는 순지의 최대 회수와 백색도(brightness) 및 물리적 강도

† Corresponding Author

Table 1. Enzyme activity and randomness of endo I and exo II purified from *T. viride* cellulase(10).

Enzyme	Specific Activity(IU mg <sup>-1</sup> ) Toward			Degree of Randomness $\Delta\phi$ /Reducing sugar
	CM-cellulose	Avicel	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> -swollen cellulose	
Endo I	17.6	0.0095	12.1	2.64
Exo II	0.09	0.0171	5.2	0.05

의 기술향상이 중요한 과제이다.

최근에 들어 펄프 제조 및 제지 분야에 효소 사용이 일반화되어가고 있으며, 특히 탈묵 처리에서도 효소 이용에 관한 연구들이 일부 보고되고 있다(1, 2). 이들 보고에 따르면 효소로 고지를 탈묵하면 수질오염 문제를 어느 정도 극복할 수 있으며 펄프의 백색도도 기존 방법보다 향상된다고 한다. 효소에 의한 탈묵은 섬유소 가수분해효소(cellulase)에 의한 섬유소 표면에서의 생물학적 작용과 인크 입자에 대한 효소 단백질의 분산 기능에 의하여 이루어지는데, cellulose를 glucose로 분해시키는 가수분해 효소인 cellulase는 복합효소로서 기질에 따른 가수분해 특성에 따라 3종류의 성분으로 분류한다. 즉 carboxymethylcellulose(CM-cellulose)의 가수분해능이 우수한 endoglucanases(EG), Avicel의 분해능이 우수한 exoglucanases(CBH), p-nitrophenyl- $\beta$ -D-glucoside의 분해능이 우수한  $\beta$ -glucosidase가 그것들이다(3, 4). Wood 와 McCrae(5)에 의하면, endoglucanase는 cellulose를 무작위(random)로 공격하여 비환원성 말단기(nonreducing end)를 만들고, exoglucanase는 비환원성 말단기를 공격하여 cellobiose를 생성시키며, 최종적으로  $\beta$ -glucosidase에 의해 glucose로 cellobiose가 분해된다. 또한 endoglucanase와 exoglucanase의 synergism에 의한 가수분해도 보고되고 있다(6-8). 섬유소의 효소 가수분해시 섬유에 붙은 인크 입자가 탈착되어 고지의 탈묵이 이루어진다. 우리는 cellulase의 분리, 정제 및 cellulase의 cellulose에 대한 흡착 및 가수분해반응 mechanism에 대한 많은 보고를 한 바 있다(9-12).

본 연구는, *Trichoderma viride*로부터 분리한 endoglucanase 및 exoglucanase가 이들 고지의 탈묵에 있어서 탈묵 메카니즘과 수율, 백색도 및 물리적 성질에 어떠한 영향을 미치는지를 알아 보고, 보다 효율적인 탈묵 방법을 찾아 보려는 것이다.

### 재료 및 방법

#### 공시 재료

#### 신문고지

국내 J일보사에서 발간된 신문고지(1995년 11월 3일)를 1×1cm(가로×세로)로 잘라 공시 재료로서 사용하였다. 이 신문고지는 함수율(moisture content)이 11.23%, 회분(ash content)이 2.86%이었다.

#### 효소

Cellulase는 *Trichoderma viride*에서 분리된 Meicelase를 사용하였으며, endoglucanases(Endo I, II, III 및 IV)와 exoglucanase(Exo II)와 같은 주요 cellulase 성분들이 Bio-Gel P10, Bio-Gel P100, DEAE-Sephadex A-50, SP-Sephadex C 50 및 Avicel PH 101을 이용한 다양한 chromatography 과정을 통하여 분리되었다(10). Endoglucanase로서 가장 전형적인 endo type인 endo I, exoglucanase로서는 exo II를 사용하였으며 분자량은 각각 52,000과 62,000이었고, activity와 환원당(reducing sugar)에 대한 점도 변화( $\Delta\phi$ )로 나타내는 무작위도(degree of randomness)는 Table 1과 같다. 또한 효소의 양은 Lowry 방법(13)으로 결정하였고, 이때 표준단백질로서 bovine serum albumin을 사용하였다. Table 1에서 볼 수 있는 것과 같이 endo I은 CMC와 H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>-swollen cellulose와 같은 비결정성 cellulose에 높은 activity를 보이는 전형적인 endo type이며, exo II는 Avicel과 같은 결정성 cellulose에 높은 activity를 나타내는 전형적인 exo type임을 알 수 있다. 또한 CMC(carboxymethylcellulose)의 가수분해에 있어서 환원당에 대한 비점도변화 측정에서, 환원당에 대한 점도변화가 exo II보다 endo I이 매우 높게 나타나고 있는데, 이는 endo I이 cellulose를 random하게 가수분해시키는 것을 의미한다.

#### 실험 방법

##### 효소에 의한 탈묵

신문고지 50g(건전기준)을 0.05M sodium acetate buffer, pH 5.0 용액에 넣어 펄프 농도가 3%

**Table 2. Repulping and flotation conditions used in deinking by enzyme.**

	Consistency (%)	Temperature (°C)	Time (min)	Air Flow (L/min)
Pulping Conditions	3	65	2	—
Flotation Conditions	1	45	7	7

되도록 조정된 후 표준해리기(TAPPI standard)에서 재펄핑하였다. 재펄핑된 시료는 진탕기 120 strokes/min에서 55°C로 1시간 동안 효소별로 처리한 후 즉시 실험실에서 제작된 flotation cell에 넣어 Table 2와 같은 조건으로 탈묵시켰다. 앞에서 분리한 endoglucanase, exoglucanase와, endoglucanase와 exoglucanase의 1:1 혼합분 및 12:1, 8:1, 4:1, 1:1, 1:4, 1:8, 및 1:12의 혼합조성분(mass ratio)이 탈묵 효소로 이용되었으며, 효소 최종 농도는 0.1~1.1mg/mL이었다.

#### 수율 측정

부상 부유시 약 1% 지료를 80 mesh 스크린에서 감압하면서 물로 지료를 세척하여 미세 입자의 잉크를 제거한 후, 약 20% 농도까지 농축시켰다. 이때의 지료 농도를 다시 정확히 측정하여 무게를 단 후 다음 식에 의하여 수율을 계산하였다.

$$\text{수율}(\%) = \frac{\text{Cell에 투입된 펄프양} - \text{부상부유 시 제거된 양}}{\text{Cell에 투입된 펄프 양}} \quad (1)$$

#### 환원당 정량

신문고지를 0.05M sodium acetate buffer, pH 5.0 용액에 넣어 펄프 농도가 3% 되도록 조정된 후 2분간 재펄핑한 후 enzyme 최종농도를 0.5mg/mL로 고정시켰다. 진탕기 속에서 120 strokes/min로 55°C에서 효소별로 시간에 따라 처리한 후 廢液을 회수하여 환원당을 정량하였다. 환원당(TRS)은 DNS 방법(14)으로 glucose를 표준물질로 하여 측정하였다.

#### 手抄紙의 제조

TAPPI standard T 205 om-88에 준하여 手抄紙를 제조하였으며, 압착이 끝난 습지는 건조기에서 105°C로 1시간 건조시켜 사용하였으며, 평량은

80g/m<sup>2</sup>이었다.

#### 백색도 측정

제조된 수초지로 백색도 측정용 패드를 만들었고, Hunter 백색도 측정기를 이용하여 백색도를 측정하였다.

#### 手抄紙의 물리적 강도 측정

초지된 종이를 20°C, RH 65% 조건에서 24시간 이상 습도를 조절시킨 후 TAPPI standard 방식으로 인장강도(T494 om-81), 파열강도(T403 os-76) 및 인열강도(T 414 om-82)를 측정한 다음, 아래식으로 인장지수, 파열지수, 인열지수를 산출하였다.

$$\text{인장지수}(\text{N.m/g}) = 653.8 \times \text{인장강도} / \text{평량}$$

$$\text{파열지수}(\text{Kpa.m}^2/\text{g}) = 98.07 \times \text{파괴하중} / \text{평량}$$

$$\text{인열지수}(\text{mN.m}^2/\text{g}) = 9.807 \times 16 \times \text{종이 1장당 파괴하중} / \text{평량}$$

#### 결과 및 고찰

Endoglucanase, Exoglucanase, 및 Endo-Exoglucanase 혼합분(1:1)의 처리에 의한 폐액 중의 환원당

Endoglucanase, exoglucanase, 및 endo-exoglucanase 혼합분(1:1, mass ratio)에 의한 고지 탈묵 후 폐액 중의 시간에 따른 환원당의 양은 Fig. 1과 같다. 즉 처음 12시간까지는 endo 성분의 환원당이 높게 나타났으나, 그 이후부터는 exo 성분 효소의 환원당이 높게 나타났다. 이는 이들 성분 효소의 특성으로 endo 성분 효소는 주로 비결정성 부분에 작용하는 효소로서 고지의 비결정성 부분을 가수분해시킨 결과, 고지의 결정성이 증가되어 나중에는 가수분해 속도가 둔화되는 것으로 생각된다. Exo 성분 효소는 주로 결정성에 강한 activity를 갖는 효소로서, 초기에는 가수분해속도가 느리나, 시간이 지남에 따라 결정성이 증가함으로 상대적으로 endo 성분보다 환원당의 양이 높게 나타난 것을 알 수 있다. 또한 두 성분을 혼합하였을 경우는 이들 각각의 성분보다 높게 나타나는데, 이는 이미 보고된 논문들(6-8)처럼 endo-exo 성분들의 synergism 결과임을 알 수 있다.

Endoglucanase, Exoglucanase, 및 Endo-Exoglucanase 혼합분(1:1)이 수율에 미치는 영향

Fig. 2에 나타난 것과 같이 효소의 농도가 증가할

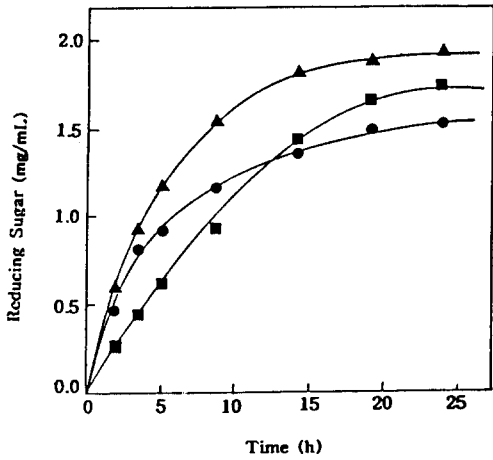


Fig. 1. The concentration of reducing sugars in the waste water of the deinked pulp as a function of hydrolysis time. (●) Endoglucanase, (■) Exoglucanase, (▲) Endo-Exoglucanase mixture(1:1).

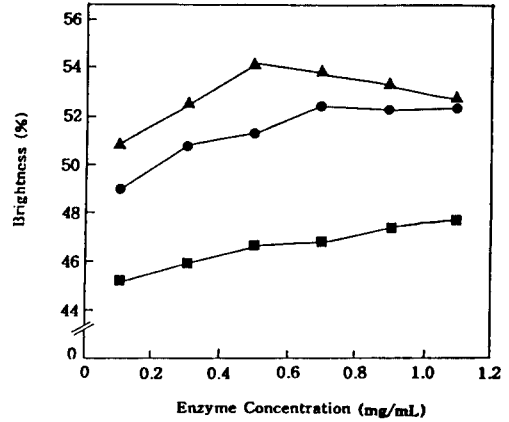


Fig. 3. Brightness of deinked pulp treated with endoglucanase, exoglucanase and their mixture(1:1) with different enzyme concentrations. (●) Endoglucanase, (■) Exoglucanase, (▲) Endo-Exoglucanase mixture(1:1).

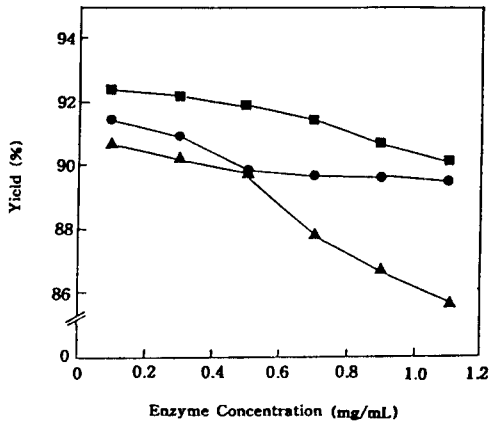


Fig. 2. Yield of deinked pulp treated with endoglucanase, exoglucanase and their mixture(1:1) with different enzyme concentrations. (●) Endoglucanase, (■) Exoglucanase, (▲) Endo-Exoglucanase mixture (1:1).

수록 수율이 감소하는 것을 알 수 있는데, 이는 효소의 첨가량이 증가할수록 cellulose의 단리가 많아져서 미세섬유와 환원당의 양이 많아져서 부상부유 시 미세섬유가 잉크 입자와 함께 제거되기 때문으로 생각된다. 특히 exo 성분 효소는 농도에 따른 수율이

높게 나타났으며 endo-exo 혼합 성분 효소는 농도에 따른 수율이 낮게 나타났다. Exo 성분 효소의 수율이 높은 것은, exo 성분 효소는 이미 보고된 것 (5)과 같이 주생성물이 cellobiose이다. 즉 exo 성분은 cellulose의 비환원성 말단기로부터 그것을 cellobiose 단위로 잘라내기 때문에, 미세섬유의 양이 상대적으로 적게 생성된다. 그러므로 endo에 의한 cellulose의 무작위 공격으로 생기는 미세섬유의 양은 exo로 처리할 경우 적게 생겨 섬유의 손실이 상대적으로 줄기 때문에 수율이 높은 것으로 생각된다. 또한 endo-exo 혼합 성분에 있어서는 수율이 적게 나타나며 농도가 증가할수록 수율도 급격히 감소한다. 이는 농도가 증가함에 따라 synergism이 증가하여 endo-exo 상호 협동작용에 의한 가수분해율이 높아지기 때문인 것으로 생각된다.

Endoglucanase, Exoglucanase, 및 Endo-Exoglucanase 혼합분(1:1)이 백색도에 미치는 영향

Fig. 3에 나타난 것과 같이 효소의 농도에 따른 백색도의 변화를 보면 exo 성분 효소로 처리한 것은 낮은 백색도를 보여 주었으며, 상대적으로 endo로 처리한 효소는 높은 백색도를 보여 주었다. 이는 exo 성분 효소가 탈묵에 있어서 큰 도움을 주지 못한다는 것을 보여주며, 탈묵은 주로 endo 성분에 의하여 이루어지고 있다는 것을 알려 준다. 또한 endo

성분과 *exo* 성분을 혼합할 경우 백색도가 향상되는 것을 볼 수 있는데, 이는 이들 효소들의 성분 혼합비에 따른 synergism 효과로 볼 수 있으며, 이들의 조성비에 따라 백색도가 달라질 수 있음을 알려 준다. Endo-*exo* 혼합 성분으로 처리한 것은, 농도 0.5mg/mL까지는 농도가 증가함에 따라 백색도가 증가하나, 농도 0.5mg/mL 이상의 농도에서는 오히려 감소한다. 이는 혼합효소의 경우 효소농도가 일정량 이상이 되면 백색도가 오히려 감소한다는 기존 보고와 일치한다(15). 이는 효소의 농도가 증가함에 따라 미세섬유 속에서 나온 미세잉크 입자의 증가 때문에 효소, 미세잉크 입자, 그리고 cellulose 간의 hydrophobic interaction로 인하여 섬유소가 부상부유되지 않기 때문인 것으로 생각된다. 이미 보고된 것과 같이, cellulose, cellulase에는 hydrophobic part와 hydrophilic part(16)가 있으며, 이들과 hydrophobic 또는 hydrophilic한 미세잉크 입자 간의 interaction 때문에, 백색도가 감소한다고 생각할 수 있다. 또한 *endo*와 *exo*를 단독으로 처리했을 때 특정농도에서 백색도 감소를 보이지 않는 것은 혼합효소일 경우 특정농도 이상에서는 미세잉크입자가 증가되어 백색도를 감소시키거나 이들을 단독으로 처리할 경우 이러한 현상이 나타나지 않기 때문인 것으로 생각된다. 즉 *endo* 성분효소는 비결정성 부분을 random하게 가수분해시키고, *exo* 성분효소는 비환원성 말단 부분을 cellobiose단위로 가수분해시키기 때문에, 이들을 단독으로 처리할 경우에는 미세섬유 속에 박혀 있는 미세잉크입자가 나오기 어려우나, 혼합효소로 처리할 경우에는 특정농도 이상이 되면 이들 효소의 상호 협동작용이 증가하여 미세결속섬유를 가수분해시켜 그 속에 박혀 있는 미세잉크입자가 빠져나와 백색도를 감소시키는 것으로 생각된다.

#### Endo, Exo, 및 Endo-Exoglucanase 혼합분 (1:1) 이 종이의 강도에 미치는 영향

Fig. 4에서 나타난 것과 같이, *endo*로 처리했을 경우 농도에 따라 인장 강도가 감소함을 보여 준다. 이는 Table 1에서 나타난 *endo*의 환원당에 따른 점도변화에서 볼 수 있듯이, *endo* 성분 효소는 섬유소의 비결정성 부분을 주로 가수분해시켜 미세섬유의 양은 증가되고 장섬유의 양은 감소하게 되기 때문이라 생각된다. 보통 미세섬유가 증가하면 인장 강도는 증가하고, 장섬유가 감소되면 인장 강도는 감소되거나 미세섬유는 부상부유 시 잉크 입자에 의해 제거되기 때문에 섬유소의 인장 강도는 장섬유의 감소로

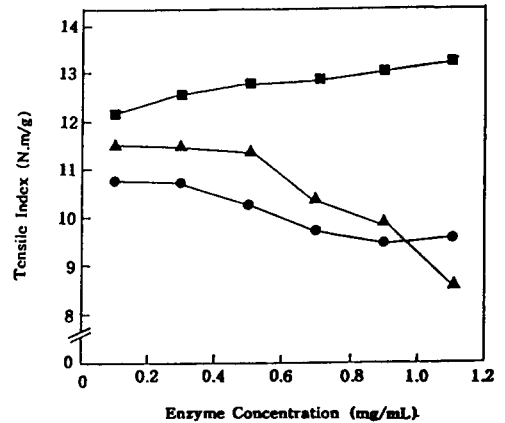


Fig. 4. Tensile index of deinked pulp treated with endoglucanase, exoglucanase and their mixture(1:1) with different enzyme concentrations. (●) Endoglucanase, (■) Exoglucanase, (▲) Endo-Exoglucanase mixture(1:1).

인하여 감소하게 되는 것으로 생각된다. *Exo* 성분으로 처리할 경우 농도에 따라 인장 강도는 *endo*로 처리했을 때보다 높게 나타났으며, 농도에 따라 약간의 증가를 보여주었다. Endo-*exo* 혼합성분으로 처리할 경우 인장 강도는 농도에 따라 *endo*에 비해 비교적 큰 변화를 보여 주었는데, 이것은 *endo*와 *exo*의 혼합비율(1:1)에 따른 상대적인 단섬유와 장섬유의 비율에 따른 강도 변화에 의한 것으로 생각된다.

Fig. 5에서 나타난 것과 같이, *exo* 성분으로 처리한 것은 과열 지수가 농도에 따라 증가되는 것으로 나타났으며, *endo-exo*로 처리한 것은 농도 0.5mg/mL까지는 증가하나 그 이상의 농도에서는 감소하는 것으로 나타났다. 그리고 *endo*로 처리한 것은 농도에 따라 감소되는 것을 알 수 있다.

Fig. 6에서 나타난 것과 같이, *exo* 성분으로 처리한 것은 농도에 따라 인열 지수가 0.5mg/mL까지는 높게 나타났으며 그 이상에서는 농도에 따라 약간 감소함을 보여 주었다. Endo, *endo-exoglucanase* 혼합성분에 의한 것은 농도에 따라 인열 지수가 감소함을 보여 주었다.

*Exo* 성분의 물리적 강도가 다른 것에 비하여 비교적 높게 나타났으며, 농도에 따라 증가되는 것을 알 수 있는데, 그 까닭은 *exo* 성분 효소의 특징 중 하나인, 섬유를 흩뜨리는 피브릴화에 의한 비표면적

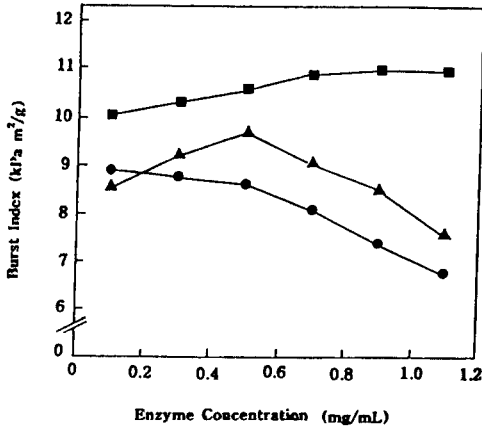


Fig. 5. Burst index of deinked pulp treated with endoglucanase, exoglucanase and their mixture(1:1) with different enzyme concentrations. (●) Endoglucanase, (■) Exoglucanase, (▲) Endo-Exoglucanase mixture(1:1).

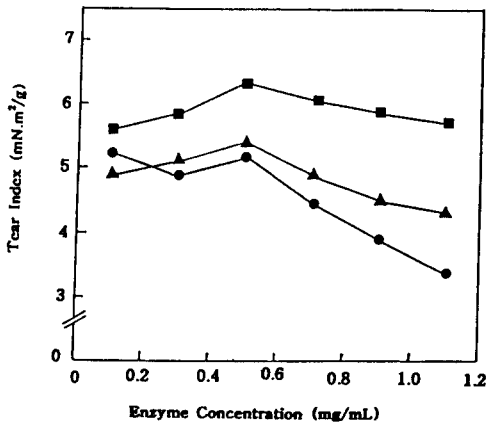


Fig. 6. Tear index of deinked pulp treated with endoglucanase, exoglucanase and their mixture(1:1) with different enzyme concentrations. (●) Endoglucanase, (■) Exoglucanase, (▲) Endo-Exoglucanase mixture(1:1).

의 증대에 따른 강도의 증가 때문으로 생각된다. 이는 Henry(17) 등의 exo 성분효소에 의한 셀룰로오스 엘리멘터리 피브릴 구조변화 관찰 결과에 따르면, 표면적이 넓어진 것에 대한 보고와 일치한다. Exo 성분 효소에는 catalytic domain과 binding

domain이 있는 것으로 알려졌으며, binding domain의 기능은 cellulose에 대한 흡착 기능뿐 아니라 cellulose를 파헤쳐 흘뜨리는 기능을 가진 것으로 알려지고 있다(18).

Endo 성분과 endo-exo 혼합분에 의한 물리적 강도는 효소의 농도가 증가함에 따라 모두 감소함을 보여주었는데, 이는 endo 성분 단독으로 처리할 경우 농도가 증가할수록 endo 성분 특징적 반응 기작인 결정형 표면의 peeling off 작용에 의한 세포벽의 박리화(19)의 증가에 의해 섬유자체의 강도 저하에 기인된 것으로 생각된다. 또한 이는 결정영역이 풍부해진 영향에 의한 종이의 각질화 현상에 기인하는 것으로 생각 된다. 즉 endo 성분 단독처리에 의한 종이의 물리적 강도는 부정적인 것으로 생각된다. 또한 혼합성분의 강도 저하는 Oltus(20) 등이 주장한 것과 같이 endo 성분의 영향인 것으로 생각된다. 대체로 효소 농도 0.5mg/mL를 경계로 급격히 물리적 강도가 저하되는 것을 알 수 있었다. 이는 물리적 강도가 효소의 농도와 관계가 있음을 알려주는 것이다.

Endo-Exo 1:1 혼합조성분이 수율, 백색도, 및 물리적 강도에 미치는 영향

섬유 손상이 적고 백색도를 높이면서 탈묵 수율이 높은 효소의 조성비를 알기 위해서 효소의 최종 농도를 0.5mg/mL로 고정시키고, endo 성분과 exo 성분효소의 질량비를 12:1, 8:1, 4:1, 1:1, 1:4, 1:8, 1:12로 변화시키면서 수율, 백색도, 및 물리적 강도를 측정된 결과가 Table 3에 나타나 있다. 일반적으로 *T. viride*인 경우 효소를 각 성분별로 분리해 보면 exo 성분 효소가 차지하는 비율이 전체성분 효소의 60%(wt%) 이상이다. 또한 보고에 의하면 (12), 가수분해율은 exo 성분 효소의 비가 많은 경우에(endo:exo=1:2) 크게 나타난다. 그러나 탈묵에 있어서는, 본 실험에서 나타난 결과를 보면, 비교적 endo 성분효소의 양이 많을 때 수율, 백색도, 및 물리적 강도가 높게 나타났다. 그 값을 보면 다음과 같다. Endo-exo의 비가, 수율은 12:1, 백색도는 12:1, 인장 강도는 4:1, 좌열 강도는 12:1, 그리고 인열 강도는 8:1일 때 가장 높게 나타났다. 즉 endo성분의 비가 많을 때 높은 수치를 보여주는 것을 알 수 있다. 수율에 있어서, endo 성분과 exo 성분 비가 12:1일 때 최대가 되는 것은, 실제 가수분해율은 exo 성분이 많은 1:2에서 최대가 되기 때문에, exo 성분의 상대적 감소에 의한 가수분해 감소

Table 3. Effect of endo-exoglucanase mixture on yield, brightness, and physical properties.

		Endo-Exoglucanase Mixture Composition(mass ratio)						
		12:1	8:1	4:1	1:1	1:4	1:8	1:12
Yield(%)		92.8	91.6	90.8	89.7	88.3	89.1	90.1
Brightness(%)		60.2	59.7	58.4	54.2	50.7	50.0	58.2
Physical Properties	Tensile Index(N.m/g)	11.7	11.9	12.4	11.3	10.4	11.0	11.5
	Burst Index(kPa.m <sup>2</sup> /g)	10.6	9.8	9.2	9.6	9.5	9.8	9.2
	Tear Index(mN.m <sup>2</sup> /g)	6.3	6.9	6.7	5.4	5.0	4.8	4.9

로 수율이 높아지는 것으로 생각된다. 또한 endo-exo의 특정비에서 물리적 강도가 높게 나타나는 것은 endo-exo 상호 협동작용에 의한 가수분해 결과, 두 성분의 특정비에서 상대적으로 장섬유의 양이 늘어나고, 일부는 exo의 피브릴화 작용으로 인한 비표면적의 증가도 영향을 미치는 것으로 생각된다(17). 이들 결과로부터 효소에 의한 탈묵에 있어서 endo 성분의 중요성을 알 수 있다. 즉 탈묵은 주로 endo 성분에 의하여 수행되어지며 exo 성분이 약간 존재할 경우, 보다 물리적 강도가 높은 산물을 얻을 수 있다는 것을 알 수 있다. 또한, 백색도가 높은 효율적인 탈묵이 이루어진다는 것을 알 수 있다. 그러므로 효소에 의한 고지의 탈묵 시 crude cellulase를 사용하여 탈묵을 할 때, crude cellulase에는 exo 성분 효소들이 60% 이상을 차지하고 있기 때문에, 백색도나 물리적인 강도면에서 보다 효율적인 탈묵을 하기 위해서는 exo 성분들의 활동을 어느 정도 억제시켜야 된다. 따라서 exo 성분들에게 선택적으로 작용하여 inhibition할 수 있는 물질을 넣어줌으로써 exo 성분의 작용이 억제된, 보다 효율적인 탈묵을 기대할 수 있을 것이다.

## 요 약

신문고지를 *Trichoderma viride*로부터 분리한 endoglucanase, exoglucanase와 이들의 혼합분(1:1)으로 탈묵시킨 후 효소농도에 따른 수율, 백색도, 및 물리적 강도를 알아 보았다. 수율은 효소의 농도 증가에 따라 감소함을 보여 주었으며, 특히 endo-exo 혼합분(1:1)으로 처리했을 경우 더욱 낮아졌다. 이는 endo-exo의 상호 협동작용에 대한 가수분해율의 증가 때문이라 생각된다. 백색도는 endo-exo 혼합분(1:1)으로 처리했을 때 가장 높게 나타났으며, 최대 값은 효소 농도 0.5mg/mL에서 나타났다. 또한 exoglucanase로 처리한 것에서는 가장 낮은 값을 보여주었다. 물리적 강도에 있어서는 exoglucanase

로 처리 했을 경우 가장 높게 나타났으며, 효소농도에 따라 물리적 강도가 증가함을 보여 주었다. 그리고 endo와 endo-exo 혼합분(1:1)으로 처리했을 경우는 농도에 따라 감소함을 보여주었다. 그리고 endoglucanase와 exoglucanase의 조합(12:1, 8:1, 4:1, 1:1, 1:4, 1:8, 1:12)에 있어서의 수율, 백색도, 및 물리적 강도를 알아 보았는데, 최대 탈묵 조건은 endoglucanase와 exoglucanase의 비가, 수율에 있어서는 4:1, 백색도에서는 12:1, 인장 강도는 4:1, 파열 강도는 12:1, 그리고 인열 강도는 8:1일 때였다. 즉 endoglucanase성분이 exoglucanase성분보다 많을 때 백색도, 물리적인 강도가 높게 나타나는 것을 알 수 있었다. 이들 결과로부터 탈묵은 주로 endoglucanase의 action에 주로 의존한다는 것을 알 수 있었다. crude cellulase에서 exoglucanase가 차지하는 비율은 60%(wt%) 이상이다. 그러므로 보다 효율적인 탈묵이 이루어지기 위해서는 exoglucanase의 action을 억제시켜주어야 할 필요가 있다.

## 참고 문헌

1. J. C. Pomnier, J. L. Fuents, and G. Goma (1989), *Tappi*, **72**, 187.
2. J. A. Heitmann, T. W. Joice, and D. Y. Prasad(1992), Enzyme Deinking of Newsprint Waste, Oral Presentation 5th Int. Conf. Biotechnology in the Pulp and Paper Industry, Kyoto, May 23-27.
3. E. T. Reese, R. G. H. Shi, and H. S. Levinson (1950), *J. Bacteriol.*, **58**, 485.
4. G. Beldman, M. F. Searle-van Leeuwen, F. M. Rombouts, and A. G. J. Voragen(1985), *Eur. J. Biochem.*, **146**, 301.
5. T. M. Wood and S. I. McCrae(1978), *Biochem. J.*, **171**, 61.

6. B. Nidetzky, M. Hayn, R. Maacarron, and W. Steiner(1993), *Biotechnol. Lett.*, **15**, 71.
7. G. Beldman, A. G. J. Voragen, F. M. Ronbouts, and W. Pilnik(1988), *Biotechnol. Bioeng.*, **31**, 173.
8. J. Woodward, M. Lima, and N. E. Lee(1988), *Ibid*, **255**, 895.
9. D. W. Kim, J. H. Yang, and Y. K. Jeong (1988), *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **28**, 148.
10. D. W. Kim, Y. K. Jeong, Y. H. Jang, and J. K. Lee(1994), *J. Ferment. Bioeng.*, **74**, 77.
11. D. W. Kim, T. S. Kim, Y. K. Jeong, and J. K. Lee(1992), *J. Ferment. Bioeng.*, **73**, 46.
12. D. W. Kim, Y. K. Jeong, and J. K. Lee (1994), *Enzyme Microb. Technol.*, **16**, 649.
13. O. H. Lowry, N. J. Roschrouhg, A. E. Farr, and R. J. Randall(1951), *J. Biol. Chem.*, **193**, 265.
14. J. B. Summer and G. F. Somers(1944), *Laboratory Experiments in Biological Chemistry*, p. 34, Academic Press, New York.
15. K. H. Paik and J. Y. Park(1993), *Journal of Korea Tappi*, **25**, 42.
16. P. J. Kraulis, G. M. Clolre, M. Nilges, T. A. Jones, G. Pettersson, J. Konowles, and A. M. Gronenborn(1989), *Biochemistry*, **28**, 7241.
17. Henri Chanzy and Bernard Henrissatt(1985), *FEBS Lett.*, **184**, 285
18. T. Teeri, T. Reinikainen, L. Ruohonen, T. A. Jones, and J. C. Knowles(1992), *J. Biotech.*, **24**, 169.
19. B. H. Kim and J. Jun(1994), *Journal of Korea Tappi*, **26**, 23.
20. E. Oltus (1987), *Cellulose Chem. Techonol.*, **21**, 668.