

폐지의 효소 탈묵

윤경동 · 박성배 · 박용현¹⁾ · 엄태진

경북대학교 임산공학과, ¹⁾바이오니아(주)

Enzymatic deinking of wastepaper

Kyung-Dong Yoon, Soung-Bae Park, Young-Hyun Park¹⁾, Tae-Jin Eom

*Department of Wood Science and Technology, Kyungpook National University,
Daegu 702-701, Korea*

¹⁾*R&D Center, Bioneer Co., LTD, Chungcheongbukdo 373-833, Korea*

Abstract

Cellulolytic enzymes were prepared from alkaline resistant microorganisms which were newly screened from calcic soil. Characteristics of enzymes and enzymatic deinking efficiency of wastepaper were investigated.

The results were summarized as follows:

1. The recovery rate of crude enzyme was 93.7% in Bio-B and 57.4% in Bio-F.
2. The protein content in crude enzymes was lowest and the thermal stability of crude enzymes was highest in Bio-F.
3. The brightness gain of Bio-F deinked pulp was best in ONP and Bio-B deinked pulp was best in MOW.
4. The reject yield was increased with enzymatic deinking flotation process.
5. The residual ink area of paper was increased with enzymatic deinking and large size of ink particles were remained in paper.

Key words : *Cellulolytic enzymes, deinking, brightness, ink particles, paper.*

1. 서 언

이의 생산을 위해서 사용되고 있으며 대략 1t의 펄프를 생산하기 위해서 30년생 수목 약 20그루 세계적으로 해마다 벌채되는 목재의 13%가 종 가 소요된다는 사실로부터 폐지류의 재활용은

산림자원보호, 이산화탄소 발생 억제, 도시쓰레기 절감 등 여러 가지 측면에서 지구환경 유지에 많은 공헌을 하고 있다고 평가되고 있다. 특히, 우리나라는 경제활동 및 국민 생활에 필요한 종이류 생산을 위한 원료의 약 70%가 폐지에 의존하고 있는 점에서 폐지의 효율적 재활용 기술개발에 관하여 지속적인 관심을 기울여야 한다.

폐지류는 수거·분리되어 여러 가지 용도로 쓰이지만 원래의 지류의 형태로 재생시켜 종이로 사용하는 것이 주된 재활용 방법이다. 지류로서의 재생 방법은 크게 두 가지 방법으로 나누어지는데 판지 등과 같이 폐지류의 잉크와 같은 이물질들을 적극적으로 제거하지 않고 그대로 초지하는 경우와 인쇄용지, 화장지 등과 같이 잉크를 적극적으로 제거하여 종이 원료로 사용하는 경우이다. 후자의 경우, 폐지류에 인쇄된 잉크의 제거 공정을 탈묵이라고 하고 이러한 목적으로 사용 되는 계면활성제 등을 탈묵제라고 한다. 종래의 화학 탈묵제에 의한 탈묵공정은 폐수의 오염이 심하고 스케일 등과 같은 공정상의 이차적인 장애를 많이 일으키게 되므로 문제해결을 위한 대책이 시급하다. 아울러 최근 들어 생활수준의 향상과 신제품, 신기술의 진보와 함께 인쇄의 고급화, 다양화 등으로 인하여 탈묵이 어려운 종이 제품이 급격히 증가하게 되었다. 이의 해결책으로서 여러 가지 방법이 검토되었지만 목질 섬유소 분해효소를 이용한 효소 탈묵 기술이 가장 주목을 받고 있으며 일부 공정에 적용되고 있다.

펄프·제지공정에 있어서 미생물 또는 효소를 사용하는 생물학적 공정기술의 기초적 연구는 상당한 성과를 보이고 있으나 산업 현장 적용에는 몇 가지 어려운 해결과제가 남아있다.^{1,2)} 목질 섬유소를 이용한 펄프표백, 수지장애개선, 탈묵 등의 기술은 지금까지 목질 섬유소 분해효소의 반응 최적 pH가 5~7, 즉 약 산성인 점이 현장

적용상 문제점으로 지적되고 있다. 이는 제지 공정이 통상적으로 pH 9~10의 alkali 영역에서 운영되고 있기 때문에 환경 친화형 제지공정 개선을 목적으로 하기 위해서는 제지공정에 도입되는 용수의 pH를 바꾸거나 중성상태에서 고지를 해섬해야 하는데 이를 위해서는 추가적인 비용과 동력이 소요된다.

이러한 이유로 인해 여러 가지 균류에서 단리된 알칼리성 cellulase의 연구보고가 최근 증가하고 있다.^{3,4)} Sharyo 등은 알칼리성 lipase를 이용하여 off-set 잉크의 제거에 사용하였고⁵⁾ Sreenath 등은 목질분해균으로부터 호알칼리성 cellulase를 단리하여 pH 8.5에서도 활성을 보이고 탈묵에 매우 효과적인 것으로 보고하였다.⁶⁾ 저자 등은 먹물버섯 배양액으로부터 알칼리성 목질 분해효소를 단리하였고 효소탈묵 시험 결과를 보고하였다.^{7,9)}

알칼리성 목질 분해 효소에 관한 연구¹⁰⁻¹³⁾는 그 역사가 길지 않음에 불구하고 세제공업, 펄프·제지산업, 농산물 가공 등 다양한 분야에서 막대한 이용 가능성과 함께 잠재성 시장을 갖고 있는 분야로서 알칼리성 목질분해효소 생산균주의 다변화 노력과 균주의 국내 확보 및 응용기술개발에 관한 연구는 매우 중요한 과제라고 할 수 있다.

본 연구에서는 탈묵 등과 같은 펄프·제지산업의 공정에 효과적으로 사용할 수 있는 알칼리성 cellulase을 분비하는 균주를 확보하고 알칼리성 cellulase의 상업적 생산 가능성을 검토하기 위한 예비 시험으로서 선발된 균주가 분비하는 알칼리성 cellulase의 효소학적 특성을 기존 상업용 효소의 그것과 비교·검토하고 폐지의 탈묵 적성을 평가하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 효소

알카리성 효소의 생산을 위하여 사용된 균주는 충청북도 단양지방 석회암 토양으로부터 selective enrichment 법¹⁴⁾에 의하여 분리된 pH 9.5의 알카리 영역에서 왕성한 생육을 보이는 미동정의 곰팡이(이하, Bio-F)와 세균(이하, Bio-B)이

다. 알카리성 목질 분해효소의 생산을 위한 미생물의 배양은 다양한 탄소원 및 질소원으로 구성된 수종의 seed culture로부터 선별된 최적 main culture에 의하여 실시되었으며 배지조성은 Table 1에 나타내었다.

Table 1. Chemical composition of main culture medium(one liter)

Bio-B	Bio-F
KH ₂ PO ₄ 2.5g	KH ₂ PO ₄ 15g, NH ₂ SO ₄ 5g
100x trace 10ml	100x trace 10ml, CaCl ₂ · 2H ₂ O 0.8g
Yest extract 5g	Tween 80 0.5g, Yest extract 0.3g
Trytone 5g	Bacto-peptone 0.75g, Solka floc 10g
Wheat bran 5g	Glucose 10g

각각의 main culture 액 중에 상기의 분리 미생물이 배양된 배지의 현탁액을 접종시키고 35℃, pH 9.5의 조건으로 3일간 배양하였다. 발효된 효소액을 원심분리한 후 상정액만 수집하여 4배량의 90% acetone에 주입하여 단백질을 침전시키고 여과하여 단백질을 수집한 후 여과물을 48시간 동결건조한 후 4℃에 보관한 것을 조효소로 하였다. 비교를 위하여 시판의 상업용 효소 Denimax-BT(Novo Co. 이하, DT)를 사용하였다.

조효소의 효소활성 측정을 위하여 CMCCase활성은 0.5% CMC 기질용액을, FPase의 활성은 whatman 여과지를 기질로 효소반응 시킨 후 생성된 환원당을 DNS 법으로 측정하였다.

단백질 농도는 원소분석 및 Lowry법¹⁵⁾에 의하여 측정하였다. 효소의 온도 안정성을 평가하기 위해 pH 9.5의 효소액을 40℃~60℃에서 8시간 정치시킨 후 CMCCase 및 FPase를 측정하였다.

2.2. 탈묵

탈묵을 위해 사용된 폐지는 신문용지(old news paper, 이하 ONP)의 경우 Y일보에서 발행한 6개

월 이상된 동일한 페이지의 신문지를 사용하였고 백상지로서는 혼합사무용지(mixed office waste, 이하 MOW)를 사용하였다. 각각의 폐지를 손으로 2×3cm 정도로 절단하여 비닐 팩에 넣어 함수율이 변하지 않게 보관하면서 탈묵용 폐지로 사용하였다. ONP 및 MOW를 각각 4% 농도로 50℃, pH 9로 조절된 표준 해리기에 대조구로서 1%의 NaOH와 0.4, 1, 4IU의 효소를 투입하여 30분 동안 해리 및 효소 반응시킨 지료를 1%로 희석시킨 후 통상의 부상부유법에 의해 탈묵하였다.

2.3 탈묵 지료의 백색도 및 화상분석

Flotation 전후의 지료 백색도를 측정하기 위해 Tappi 표준법(Tappi standard T000)에 의거하여 백색도 측정용 pad를 제작하였고, flotation중에 거품과 함께 제거되는 reject도 수집하여 무게를 알고 있는 여과지를 사용하여 여과한 후 여과지와 함께 건조하여 정량하였다. 백색도 측정용 패드의 백색도를 측정하고 탈묵 지료의 수초지 2×2 cm² 중의 잔존 잉크면적 및 잉크입자 분포를 image analyser(Matrox electronic system)에 의해 10

회 측정된 후 평균값을 결과로 하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 조효소 수율 및 활성

Bio-B의 경우 낮은 pH의 산성 및 중성의 배지에서보다 pH 9의 배지에서 분비되는 CMCCase의 활성이 높은 것으로 관찰 되었고 Bio-F의 경우는 pH 9의 배지에서의 배양된 배양액의 경우가 pH 7

보다는 높은 CMCCase 활성을 나타내는 것으로 비루어 Bio-F가 분비하는 효소는 산성과 알칼리성에서 모두 작용할 수 있는 두 종류의 cellulase가 분비되는 것으로 예상된다. Table 2는 main culture 배양액으로부터 침전시킨 후 동결건조하여 얻어진 분말상 조효소의 활성 및 수율을 나타낸 것이다. Bio-F의 경우 CMCCase의 회수율이 57.4%에 지나지 않으므로 용매 침전법에 의해 분말 효소를 생산하고자 할 때는 효소활성의 저하가 발생할 수 있을 것으로 예상된다.

Table 2. CMCCase recovery of crude enzyme in a 30L fermenter at pH9

Strains	Culture vol.	CMCase (U/ml)	Weight of cellulase powder(g)	CMCase (U/g)	Recovery (%)
Bio-B	15L	2.24	21	1,500	93.7
Bio-F	15L	6.1	75	700	57.4

3.2 단백질 함량

Figure 1은 원소분석 및 Lowry법에 의해 Bio-B와 Bio-F 및 상업용으로 시판되고 있는 DT의 단백질 함량을 측정된 결과이다. Bio-B 및 DT의 경우보다 Bio-F의 단백질 함량이 낮은 것을 알 수 있다.

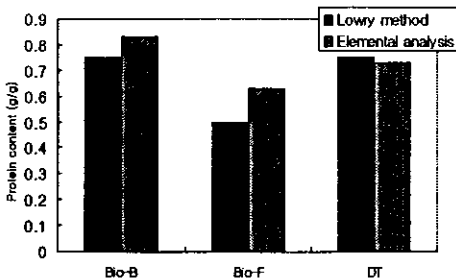


Fig.1. Protein content of crude enzymes.

3.3 온도 안정성

각 효소의 pH9에서 온도 안정성을 평가하기

위해 40°C~60°C에서 8시간 정치시켜 CMCCase 및 FPase 효소활성을 측정된 결과를 Figure 2로부터 Figure 7에 나타내었다. Bio-B의 경우는 60°C에서 온도 안정성이 급격히 떨어지는 반면 Bio-F의 경우는 상업성 효소인 Denimax-BT와 비슷한 경향이 있고, Bio-B보다는 Bio-F가 온도 안정성이 큰 것을 알 수 있다. 따라서 탈묵 공정 용수가 통상 50°C 이상의 고온이며 온도의 변화가 비교적 심한 것을 고려해 볼 때 탈묵공정을 위해서는 Bio-F가 보다 적합 효소인 것으로 판단된다.

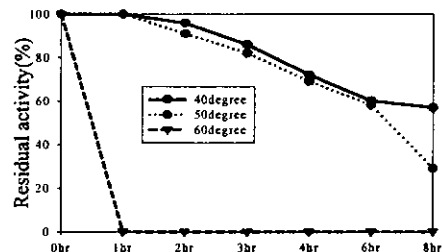


Fig. 2. Thermal activity of CMCCase in Bio-B.

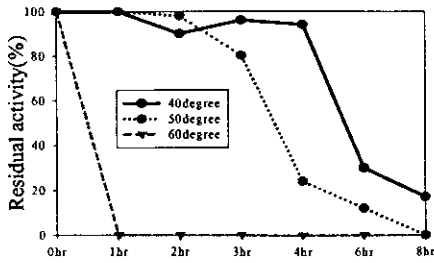


Fig. 3. Thermal stability of FPase in Bio-B.

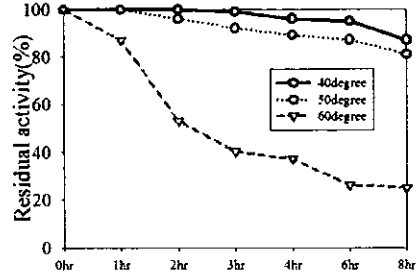


Fig. 7. Thermal stability of FPase in DT.

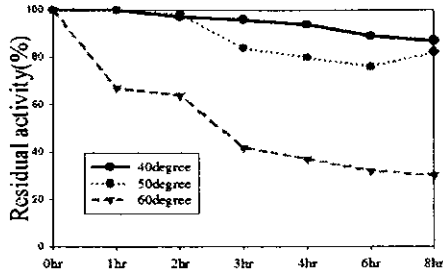


Fig. 4. Thermal stability of CMCase in Bio-F.

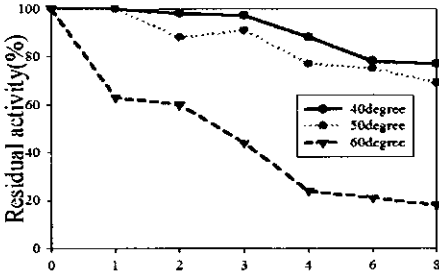


Fig. 5. Thermal stability of FPase in Bio-F.

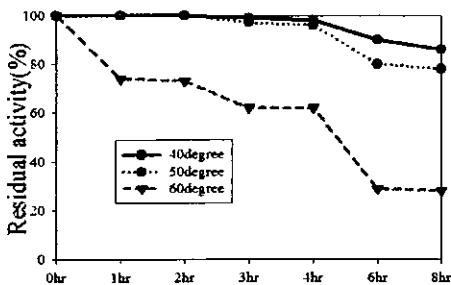


Fig. 6. Thermal stability of CMCase in DT.

Bio-B의 경우 FPase의 활성이 CMCase의 활성에 비하여 보다 오래 동안 유지되었다. 결론적으로 어느 효소의 경우에도 60°C에서는 2시간을 전후하여 활성이 급속히 저하되는 것을 알 수 있다. 따라서 제지공정 중에 효소를 처리하는 경우, 60°C 이상의 용수에서 장시간 사용할 경우는 특별한 주의가 필요하다고 할 수 있다.

3.4. 탈묵 지료의 백색도

Figure 8에 Bio-B와 Bio-F에 의해 탈묵된 지료의 백색도와 탈묵전 지료의 백색도 차이 값을 나타내었다.

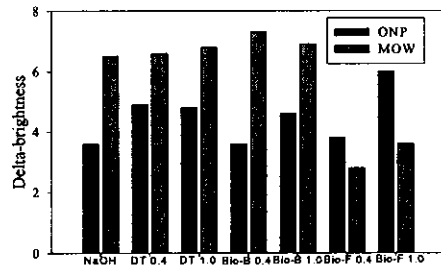


Fig. 8. Brightness gain of deinked ONP and MOW.

ONP의 경우를 보면 대조구인 NaOH의 경우 2.5~3% 정도의 백색도 증가를 보이고 DT의 경우에는 4.7~6.7%의 증가를 나타내는 반면에 Bio-F는 5.1~8.2%의 백색도 증가를 보인다. 또한 효소양이 증가하면 백색도 증가치가 다소 떨

어지는 현상으로 0.4 IU일 때 최대의 백색도 증가를 보인다. 한편 MOW의 경우에는 이와 반대의 현상을 나타내고 있다. 즉, 대조구인 NaOH의 경우 6.4~6.9%의 백색도 증가를 보이는 반면에 Bio-F는 대조구인 NaOH보다 낮은 4.9~5.3% 정도의 백색도 증가를 보이고 있으나 Bio-C의

경우보다 높은 백색도 상승을 보이고 있다. 결론적으로 ONP의 경우 DT를 사용한 경우에 비해 Bio-F를 사용한 경우의 탈목지료 백색도 증가치가 높아지지만, MOW의 경우는 Bio-C를 사용한 경우가 백색도 증가에는 보다 효과적이었다라고 할 수 있다.

3.5. 탈목 지료의 수율

Table 3. Reject yield of ONP and MOW in flotation(%)

	NaOH	Bio-B 0.4	Bio-B 1	Bio-B 4	Bio-F 0.4	Bio-F 1	Bio-F 4
ONP	12.8	17.1	15.2	16.4	16.5	15.9	13.6
MOW	18.6	16.3	17.0	16.2	11.3	19.0	15.2

Table 3에 효소의 첨가량을 다르게 하여 탈목할 경우의 부상부유 공정 중에 기포와 함께 제거되는 ONP와 MOW의 flotation reject수율을 나타내었다. ONP에 있어서 대조구인 NaOH 탈목의 경우는 원료폐지에 대해 12.8% reject 수율에 비하여 효소를 사용한 경우의 reject수율 보다 낮게 나타났다. 이것은 ONP에 있어서 효소에 단백질에 의한 미세입자의 응집에 의한 결과로 추론된

다. 또, Bio-C보다 Bio-F가 reject율이 낮음에도 불구하고 flotation 전후의 백색도 상승율이 높은 것으로 관찰되었다.

MOW의 경우 대조구보다 낮은 reject수율을 보이고 있어 본 배양의 효소 탈목의 경우가 종래의 화학 탈목에 비하여 탈목 수율을 높일 수 있다고 말할 수 있다.

Table 4. Dirt area of MOW(ppm)

	NaOH	DT 0.4	DT 1	DT 4	Bio-F 0.4	Bio-F 1	Bio-F 4
Before Flotation	29.23	22.06	25.72	26.38	26.42	39.94	29.1
After Flotation	5.7	5.6	5.4	5.6	6.07	8.05	9.8

3.6. 수초지의 화상분석

Table 4는 각각 다른 양의 Bio-F에 의하여 탈목된 지료를 0.8micron membrane filter로 일정 희석하여 sheet제작한 것을 image analyzer를 통해 얻어진 Dirt area를 ppm으로 나타낸 것을 DT의 결과와 비교한 것이다. Flotation의 전후의 잔존 잉크 면적은 현격한 차이를 보이고 있는 것으로 부상부유에 의하여 상당히 많은 양의 잉크가 계외로

제거되었음을 알 수 있다. 그러나 전반적으로 Bio-F 처리 지료의 Flotation 후의 잔존잉크 양이 대조구 및 DT의 경우보다 약간 높은 것으로 Bio-F에 의한 탈목 MOW의 백색도 상승이 크지 않았던 이유로 설명할 수 있다.

Figure 9는 MOW의 탈목지료 중에 잔존하는 잉크의 사이즈별 분포를 조사한 값이다. 입자크기를 100~1000 μ m로 나누어 조사한 결과 대조구

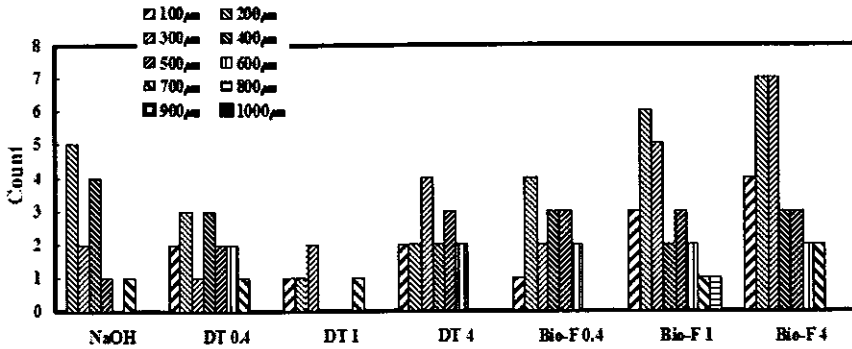


Fig. 9. Residual ink Particle size distribution of deinked MOW

의 경우는 100µm 정도의 작은 입자가 효과적으로 제거되었고 대조구 보다는 DT에 의한 탈묵 지료의 잉크 크기별 잔존 개체수가 낮은 것을 알 수 있다. 대조구와 DT에 비하여 Bio-F에 의한 탈묵 지료 중의 직경 분포별 잔존 잉크가 많은 것은 추후 개선되어할 것으로 생각한다.

결 론

새로이 분리된 균주를 배양하고 배양액으로부터 목질 분해효소를 분리하였다.

분리된 조효소의 특성과 효소탈묵 적성을 조사하여 얻어진 결과를 다음과 같이 요약할 수 있다.

1. 효소단백질의 회수율은 Bio-B의 경우 93.7%, Bio-F의 경우 57.4%였다.
2. 조효소 중의 단백질 함량은 Bio-F의 경우가 가장 낮다.
3. 조효소의 온도안정성은 Bio-F의 경우가 가장 우수하였다.
4. ONP의 경우 Bio-F, MOW의 경우 Bio-B에 의해 탈묵된 지료의 백색도 상승률이 높게 되었다.
5. 폐지의 효소 탈묵은 부상부유공정에 있어서 reject가 많아지게 된다.

6. 수초지 중의 잔존잉크면적이 넓고 직경이 큰 입자가 많이 잔존하고 있다.

참고문헌

1. Letscher, M., Sutman F. J., *J. Pulp and Paper Sci.* 18(16), 225 1992.
2. Phalzer, L., *Tappi* 63(9), 113 1980.
3. Phipps, J., *Paper Tech.* 35(6), :34 1994.
4. Mahagaonkar, M. S., "The role of different alkali sources in deinking and bleaching processes," Ph. D. thesis, The University of Tasmania, Hobart, Australia, 1995.
5. Sharyo, M., Sakaguchi, H., Kokai, T., *Japanese Pat.*, JP02160984 1998.
6. Sreenath, H.K., Yang, V.W., Burdsall, H.H., Jeffries, T.W., *Enzymes for pulp and paper Processing*, ACS Symposium Series 655, ACS, 267-279 1996.
7. Lee, J. and Eom, T., *J of K Tappi*, 31(3), 68 1999.
8. Park, S., Lee, J., Eom, T., *J. Ind. Eng. Chem.*, 10(1), 72 2004.
9. Kang, S., Lee, J., Park, S., Eom, T., *K Tappi*, 35(3), 67(2003)

10. Santosh, V., Anil, L., enzyme and microbial technology, 32, 236 2003.
11. U. Tschimer, C. W. Dence : Paperi ja Puu, 70, 338 1988.
12. B. J. W. Cole, K. V. Sarkanen : Tappi, 71, 117 1988.
13. Anne, L., Peter, D., Wolfgang, Z., J. of biotechnology, 67, 229 1999.
14. Healy, D., Ye, M.Q., Troyanosuvkaya, M., American J. of Physiology, 286, 220 1995.
15. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Favr, A.L., Ramdall, R., J. Biol. Chem., 193, 265 1951.