

Enzyme beating 전처리를 통한 Micro-Fibrillated Cellulose 제조 및 지력증강 효과

안은별 · 홍성범 · 김강재 · 엄태진[†]

접수일(2015년 11월 7일), 수정일(2015년 12월 11일), 채택일(2015년 12월 13일)

Micro-Fibrillated Cellulose Preparation with Enzyme Beating Pretreatment and Effect on Paper Strength Improvement

Eun-Byeol Ahn, Sung-Bum Hong, Kang-Jae Kim and Tae-Jin Eom[†]

Received November 7, 2015; Received in revised form December 11, 2015; Accepted December 13, 2015

ABSTRACT

Microfibrillated cellulose (MFC) or Nanofibrillated cellulose (NFC) has been used to reduce the use of raw pulp and to improve paper strength. The problem of MFC preparation is high manufacturing cost. In this study, it was carried out to prepare MFC after enzyme beating and estimated properties of MFC. Endo-D was the best beating efficiency among three type of endo-glucanase. As the grinder pass number increased, the viscosity and the fines of MFC suspension increased while the crystallinity and the porosity of MFC sheet decreased. Also enzyme beating MFC was higher value in the crystallinity and lower value in the viscosity than non-enzyme MFC. In addition, the aspect ratio of MFC was the highest at 5 pass. MFC addition improved the handsheet strength and the air permeability but worsened the drainage.

Keywords: Microfibrillated cellulose (MFC), enzyme beating, endo-glucanase, beating efficiency, viscosity

1. 서론

최근 바이오 소재로써 셀룰로오스 나노섬유에 대한 연구가 많이 이루어지고 있다. 셀룰로오스 나노섬유는 펄프나 복합재에 첨가했을 때 우수한 물성을 나타내

며 다양한 분야에서 활용이 가능한 재료로 평가되고 있으며 특히 제지분야에서 원료 펄프 절감이나 종이 강도 개선의 가능성을 확인하였다.¹⁻⁴⁾ 셀룰로오스 나노섬유는 섬유의 형태에 따라서 크게 2종류로 나눌 수 있는데 먼저 장폭비가 작고 나노크기의 크리스탈 형태

• 경북대학교 농업생명과학대학 임산공학과(Dept. of Wood Science and Technology, College of Agriculture and Life Science, Kyungpook National University, Daegu, 702-701, Korea)

[†] 교신저자(Corresponding Author): E-mail: tjeom@knu.ac.kr

를 갖고 있는 섬유는 whisker 또는 microcrystalline cellulose(MCC), nanocrystalline cellulose(NCC), cellulose nanocrystal(CNC) 등으로 부른다. 이와 달리 장폭비가 크고 수 마이크로 이상의 크기를 갖는 섬유는 microfibrillated cellulose(MFC), nanofibrillated cellulose(NFC), cellulose nanofibril(CNF) 등으로 부르고 있다.⁵⁾ 이처럼 셀룰로오스 나노섬유를 2종류로 나눌 수는 있지만 각각의 세부적인 명칭에 대한 명확한 기준은 없기 때문에 MFC나 NFC나 비슷한 개념으로 사용하고 있다. MFC를 제조하는 방법은 다양하며 일반적으로는 그라인더(grinder)나 균질기(homogenizer)와 같은 기계적 동력을 이용하여 제조하고 있다.⁶⁾ 하지만 기계적인 힘만으로는 제조 시 동력비가 많이 든다는 단점이 있기 때문에 이를 보완하기 위하여 화학적 또는 enzyme 전처리를 통해 MFC 제조를 용이하게 하기 위한 연구가 활발히 이루어지고 있다. 특히 enzyme 전처리는 친환경적인 방법으로 MFC 제조 시 에너지 절감을 위해 전처리 시 enzyme이나 고해를 실시한 연구사례가 꾸준히 발표되고 있다. Henriksson 등⁷⁾의 연구에서는 endo-glucanase로 전처리하여 MFC를 제조하였으며 실험 결과, 산 전처리와 비교하여 endo-glucanase로 전처리했을 때 MFC 제조가 용이하였고 제조한 MFC의 평균 분자량과 장폭비가 더 높게 나타났다. Nechyporchuk 등⁸⁾은 cellulase와 endo-glucanase로 NFC 제조 시 전처리하였으며 실험결과 cellulase보다 endo-glucanase로 전처리한 NFC의 미세분 함량, 결정화도와 점도가 더 높았다고 보고하였다. Kim 등⁹⁾의 연구에서는 MFC 제조를 위해 전처리로서 enzyme을 처리하여 고해동력을 줄일 수 있음을 보고하였으며 Ahn 등¹⁰⁾은 MFC 제조 전처리로서 팽윤제를 사용하였으며 팽윤 후 고해를 실시하여 적은 동력비로 MFC 제조가 가능함을 보고 한바 있다.

따라서 본 연구에서는 MFC 제조 시 전처리 방법으로 친환경적인 장점이 있는 enzyme beating을 실시하여 MFC를 제조하였으며 이에 따른 동력 에너지 절감 효과와 수초지 제조 시 지력증강 효과를 알아보고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 공시재료

2.1.1 펄프

침엽수 펄프의 경우 섬유장이 길어 미세한 섬유를 제조하는데 활엽수 펄프보다 많은 에너지가 들기 때문에 본 연구에서는 S사에서 제공받은 섬유장 0.80 ± 0.05 mm의 활엽수 표백크라프트펄프(HwBKP)를 사용하였다.

2.1.2 Enzyme

본 연구에서 사용한 효소는 endo-glucanase로 알려진 3종류의 효소를 사용하였으며 각각의 특성들을 Table 1에 나타내었다.

Table 1. Properties of enzymes in a catalog

Enzyme	Optimum pH	Optimum temp. (°C)	Solid content (%)	Activity
Endo-D	6.0-8.0	50-60	100	750 EGU/g
Endo-F	-	50-60	22.3	4500 CNU-CA/g
Endo-N	4.5-5.5	45-55	21.6	8000 HCU/g

2.1.3 기질

본 연구에서는 효소활성을 측정하기 위해 endo-glucanase의 기질로 알려진 carboxymethylcellulose(CMC) 수용액을 사용하였다.

2.2 실험방법

2.2.1 효소활성

카탈로그에 나타나있는 효소활성 단위가 모두 다르기 때문에 국제표준단위인 I.U.(international unit)로 나타내어 3종류의 효소 활성을 비교하여 Fig. 1에 나타냈다. I.U.란 정해진 조건에서 1분간 기질 1 μmol의 변화를 활성화시키는 효소량으로 단위는 μmol/min 으로 나타낸다. 50°C에서 pH에 따른 효소 활성은 Endo-D와 Endo-F의 경우 pH 6-8의 범위에 활성이 높게 나타나 두 효소가 중성 pH에서 최적 활성을 나타냄을 알 수 있었다. 반면에 Endo-N은 산성 pH에서 최적 활성을 나타내기 때문에 pH 5에서 활성이 가장 높고 그 이상의 pH에서는 활성이 감소하는 것으로 나타났다. pH 7의 같은 조건에서 온도에 따른 효소의 활성은 대체로 50°C이상에서 효소의 활성이 높게 나타났으며 특히 Endo-D의 경우 50°C

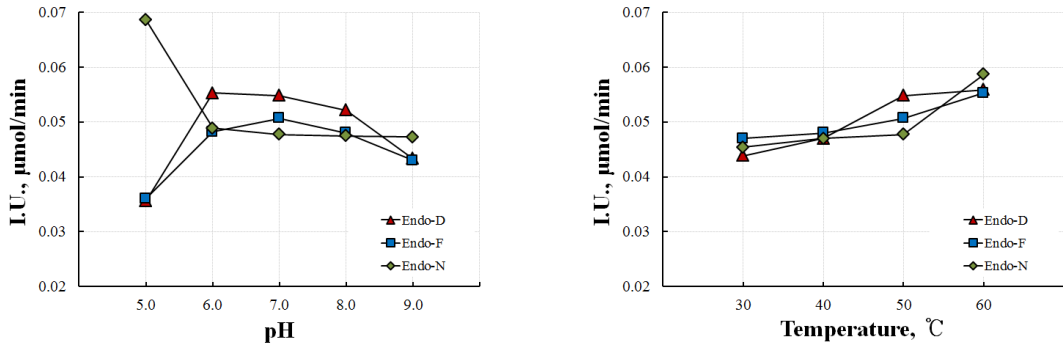


Fig. 1. Enzyme activity of endo-glucanase at different pH (left) and temperature (right).

이상에서 활성의 변화가 거의 없었고 두 조건에서 가장 높은 활성을 나타냈다. 따라서 에너지 사용을 최소화하기 위하여 50℃의 중성조건에서 이후의 효소 반응을 진행하였다.

2.2.2 Enzyme beating 전처리를 통한 MFC 제조

펄프 슬러리에 3종류의 효소를 투입하여 50℃의 중성 조건에서 1시간 동안 반응시켰으며 효소 투입량은 0.2 I.U.의 동일한 활성단위로 통일하였다. 효소 반응 후 100℃에서 10분간 효소 활성을 정지시킨 다음 펄프 슬러리의 농도를 1.5%로 맞추어 나이아가라 비터(DM-822, Daeil Machinery Co., Ltd., Korea)를 이용하여 고해를 실시하였다. 이때 10.7 kg의 추로 하중을 가하여 여수도가 100 mL CSF가 될 때까지 고해를 실시하였다.

고해가 끝난 펄프 슬러리를 1%로 희석하여 Super Masscolloider(MKCA6-2, MASUKO SANGYO Co., Ltd, Japan)로 처리하였다. 그라인더 처리 시 갭 사이즈는 -90 μm로 하였으며 통과횟수가 5, 10, 15회 때마다 시료를 채취하였다.

2.2.3 점도

그라인딩하여 제조한 MFC 현탁액을 0.5%로 희석하여 브룩필드 점도계(RVDV-II+P, Brookfield, USA)로 점도를 측정하였다. 4번 스펀들을 사용하여 140 rpm의 회전속도로 시료의 점도를 측정하였으며 이때 시료의 온도는 22℃로 조절하였다.

2.2.4 Microscope

시편을 제작하여 Image Analyzer(BX50, Olympus optical Co., Ltd., Japan)와 FE-SEM(SU8220, Hi-

tachi, Japan)를 이용하여 섬유 형태를 관찰하였으며 0.3%로 희석한 MFC 현탁액을 30℃에서 48시간 건조시켜 얻은 MFC sheet의 표면을 관찰하였다.

2.2.5 장폭비

FlowCAM(FolwCAMVS-Series, Fluid Imaging Technologies, USA)을 이용하여 MFC를 관찰하였다. 관찰한 3종류의 이미지에서 1,000여개의 샘플을 무작위로 선택하여 섬유의 길이와 폭을 측정하였으며 평균값을 이용하여 장폭비(Length : Width)를 계산하였다.

2.2.6 결정화도

MFC sheet를 X-선 회절 분석기(XRD, D/Max 2500, Rigaku, Japan)를 이용하여 회절도를 측정 후 Se-gal 등¹⁰⁾과 같이 결정화도를 Eq. 1에 의하여 계산하였다.

$$Crystallinity(\%) = \frac{I_{002} - I_{am}}{I_{002}} \times 100 \quad [1]$$

$$I_{002}: 2\theta = 22.7^\circ, I_{am}: 2\theta = 18^\circ$$

2.2.7 MFC 첨가한 수초지의 물성

해리한 활엽수 표백 크라프트 펄프에 제조한 MFC를 전건펄프 대비 1, 5, 10% 첨가하여 평량 60 g/m²의 수초지를 제작하였으며 수초지의 인장강도(TAPPI T-494), 인열강도(TAPPI T-414), 투기도(TAPPI T-460)를 TAPPI standard에 의거하여 측정하였다. 단위면적당 동일한 양의 물이 빠지는데 걸리는 시간을 알아보기 위해 상온에서 표준 원형 수초지기에 6,000 mL의 물을 채운 후 물이 완전히 빠지는데 걸리는 시간을 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 Enzyme beating 효과

그라인더의 소비전력은 시간당 1.5 kW로 그라인더를 이용하여 MFC 제조 시 많은 동력이 필요하다. 하지만 비터의 소비전력은 시간당 0.4 kW로 그라인더보다 동력이 적게 필요하기 때문에 그라인더 처리 전 고해를 통해 섬유를 미세하게 절단하여 그라인더 처리 횟수를 줄이기 위해 여수도 100 mL CSF가 될 때까지 고해를 진행하였다. 효소의 종류에 따라 여수도 100 mL CSF가 될 때까지 고해하는데 걸리는 시간을 측정하고 고해 시 소비하는 전력량의 감소를 비교한 그래프를 Fig. 2에 나타냈다. 효소 처리를 하지 않은 시료를 non-enzyme이라고 하였으며 각각의 효소를 이용하여 enzyme beating을 실시한 시료를 Endo-D, Endo-F, Endo-N으로 표시하였다. Non-enzyme의 경우 여수도 100 mL CSF가 될 때까지 고해하는데 45분이 걸렸으나 enzyme beating했을 때 동일 여수도에 도달하는데 걸리는 시간이 단축되었다. Endo-D는 20분, Endo-F는 25분, Endo-N은 약 32분 만에 동일 여수도에 도달하였으며 단축시간을 토대로 에너지 절감 정도를 비교하였다. Non-enzyme을 0으로 봤을 때 enzyme beating을 통해서 동일한 여수도에 도달하기 위해 소비하는 전력량이 감소하였다. 특히 Endo-D는 펄프 톤당 1,120 kW의 에너지가 절감되어 가장 많은 에너지 절감효과가 있는 것으로 나타났다.

3.2 MFC의 점도 특성

MFC 현탁액의 점도를 측정하여 그래프를 Fig. 3에 나타냈다. 점도는 Ryu¹²⁾의 연구결과와 일치하는 것으로 그

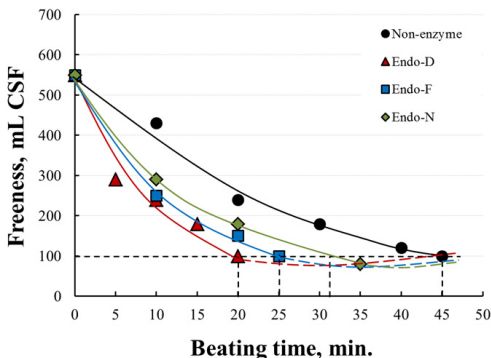


Fig. 2. Freeness change of pulps (left) and energy saving (right) with three types of enzyme beating.

라인더 통과 횟수가 증가할수록 섬유 표면의 피브릴화로 인해 비표면적이 증가하여 섬유 사이에 결합력이 증가하므로 점도가 상승하는 것으로 나타났다. 하지만 10회 이후에는 피브릴화보다 섬유의 절단이 많이 발생하여 점도의 변화가 거의 없었다. Enzyme beating한 시료의 경우 효소 가수분해로 인해 분자량이 감소하여 non-enzyme과 비교했을 때 상대적으로 점도가 낮았으며 그라인더 통과횟수에 따른 점도의 변화가 적게 나타났다. 3 종류의 효소 중에서 Endo-D의 점도가 가장 높게 나타났으며 점도가 가장 낮은 것은 Endo-N이었다.

3.3 MFC의 microscope

Fig. 4는 MFC 현탁액을 광학 현미경으로 관찰한 이미지로 그라인딩 전에는 큰 섬유가 많이 관찰되었으나 그라인더에 10회 통과 후 섬유의 피브릴화가 많이 발생하여 미세섬유가 증가하였고 큰 섬유는 거의 관찰되지 않았다.

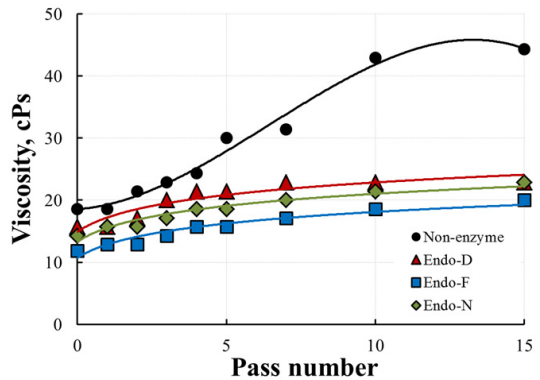
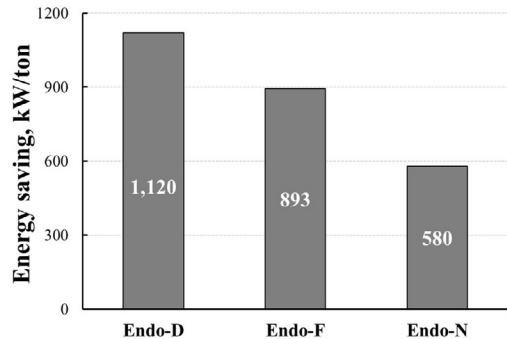


Fig. 3. Viscosity of MFC suspension at the pass number of grinder.



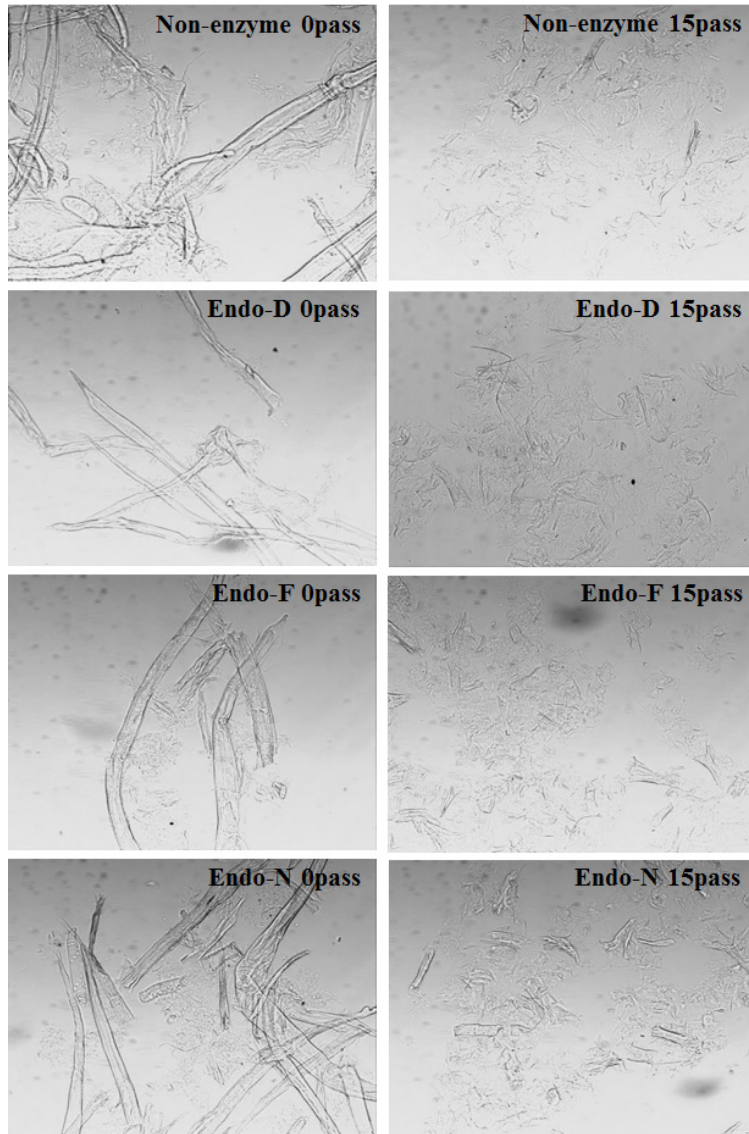


Fig. 4. Optical images of MFC suspension ($\times 200$).

Fig. 5는 MFC 시트의 표면을 FE-SEM으로 관찰한 이미지로 그라인딩 전에는 시트 표면에 공극이 많이 존재하며 섬유 형태가 관찰되었다. 그라인더 통과 횟수가 증가할수록 시트 표면에 섬유의 형태와 공극이 거의 관찰되지 않았다. 특히 non-enzyme의 경우 그라인더에 15회 통과한 시트의 표면에 요철현상이 관찰되었으나 Endo-D의 경우 표면이 비교적 더 매끄럽게 관찰되어 미세한 섬유로 시트가 형성 되어있음을 알 수 있었다.

3.4 MFC의 장폭비

다양한 이미지로 섬유를 관찰한 후 섬유의 길이와 폭을 측정하여 장폭비를 계산하였으며 그 결과를 Fig. 6에 나타냈다. Siro 등¹³⁾의 연구에 따르면 일반적으로 MFC의 장폭비는 100 - 150 : 1이며 길이는 수 μm 라고 보고한 바 있다. 본 연구에서 그라인더에 5회 이상 통과했을 때 100 - 150 : 1의 장폭비를 나타내는 MFC를 제조할 수 있었으며 이때 MFC의 폭은 약 400 nm, 길이는 수 μm 를 나타냈다. 그라인더에 5회 이상 통과시켰을 때 섬유의 절

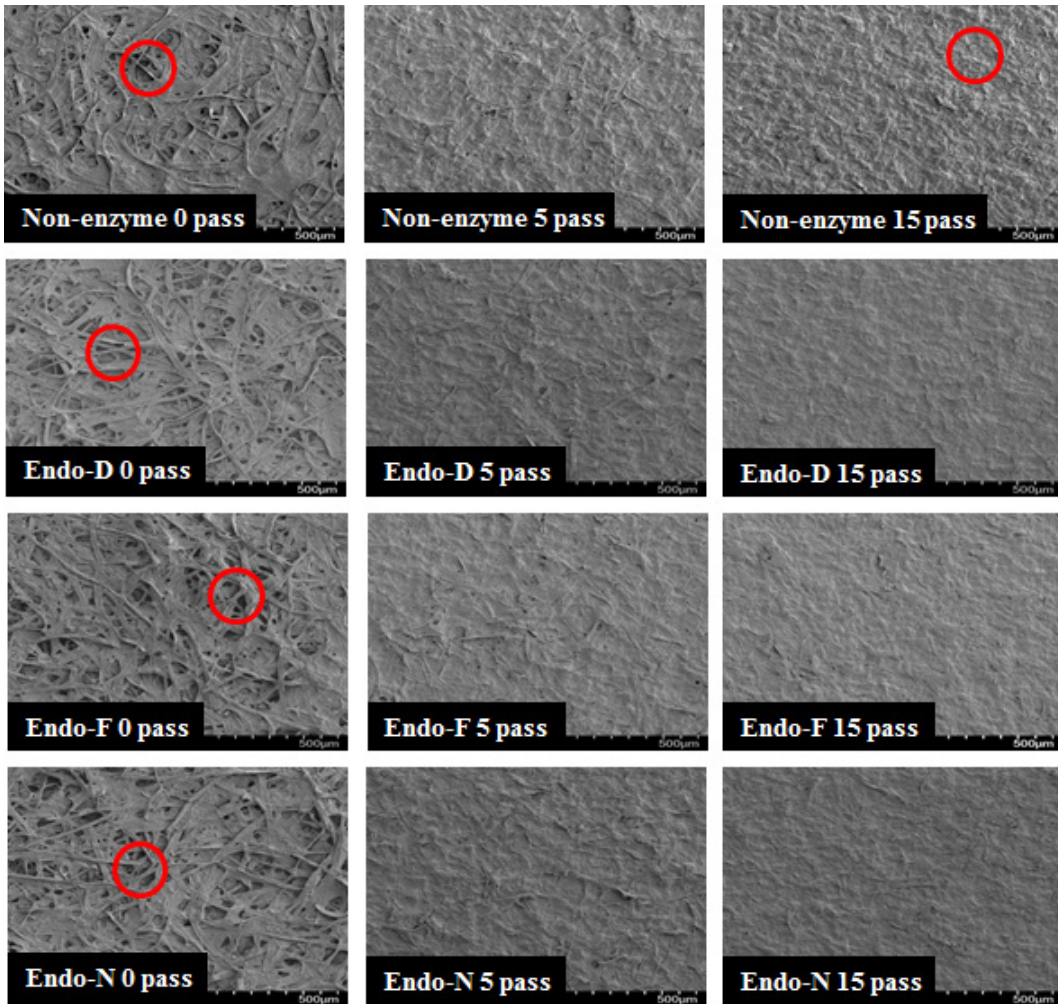


Fig. 5. FE-SEM images of MFC sheet surface at the pass number of grinder.

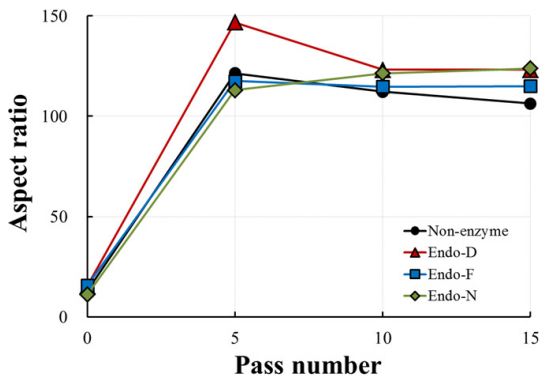


Fig. 6. Aspect ratio of MFC at the pass number of grinder.

단 발생하여 장폭비가 조금 감소하였으나 큰 차이는 나타나지 않았다. 제조한 MFC 중에서는 Endo-D를 처리한 MFC의 장폭비가 가장 높았다.

3.5 MFC의 결정화도

Fig. 7은 제조한 MFC sheet를 이용하여 결정화도를 측정한 그래프이다. 결정화도 측정 결과 그래핀더 통과횟수가 증가할수록 기계적인 힘에 의해 셀룰로스 결정영역이 파괴되어 결정화도가 조금 감소하는 것으로 나타났으며 5회 이후 변화는 거의 없었다. 특히 non-enzyme 보다 enzyme beating한 시료의 결정화도가 대체로 조금 높게 나타났는데 이는 Qing 등¹⁴⁾의 연구결과와도 유사한 것으로 효소가수분해에 의해 비결정

영역이 주로 공격을 받기 때문에 결정화도가 상대적으로 높게 측정되었다.

3.6 수초지의 물성

3종류의 효소 중 가장 에너지 절감효과가 좋고 비교적 높은 장폭비와 점도를 나타낸 Endo-D를 그래인더에 10

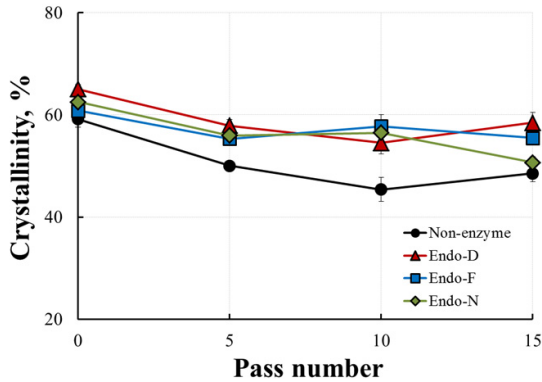


Fig. 7. Crystallinity of MFC sheet at the pass number of grinder.

회 통과시킨 시료를 전건펄프 대비 1, 5, 10% 첨가하여 제조한 수초지의 물성을 측정하고 그 결과를 Fig. 8에 나타냈다. 먼저 수초지의 인장강도와 인열강도는 MFC 첨가량이 증가할수록 섬유 간 결합력이 증가하기 때문에 강도도 상승하였다. MFC를 5% 첨가했을 때 첨가하지 않은 수초지보다 인장강도는 약 107% 상승했으며 인열강도는 약 64% 상승했다. 투기도는 MFC를 5% 첨가했을 때 약 28% 감소하며 10%의 MFC를 첨가했을 때 투기도가 급격하게 감소하였다. 투기도의 감소는 초지 시 탈수능력과의 관계가 있을 것으로 판단하여 초지 시 단위면적당 동일한 양의 물이 빠지는데 걸리는 시간을 측정하였다. 그 결과 동일한 양의 물이 빠지는데 걸리는 시간은 MFC를 5% 첨가 시 75% 상승했고 10% 첨가 시 100% 이상 상승하였다. 따라서 MFC 첨가량이 증가할수록 수초지의 강도와 투기도에는 좋은 영향을 미치지만 탈수에 어려움이 있기 때문에 이를 고려하여 MFC 첨가량을 조절하거나 탈수문제를 개선하기 위한 검토가 필요할 것으로 판단된다.

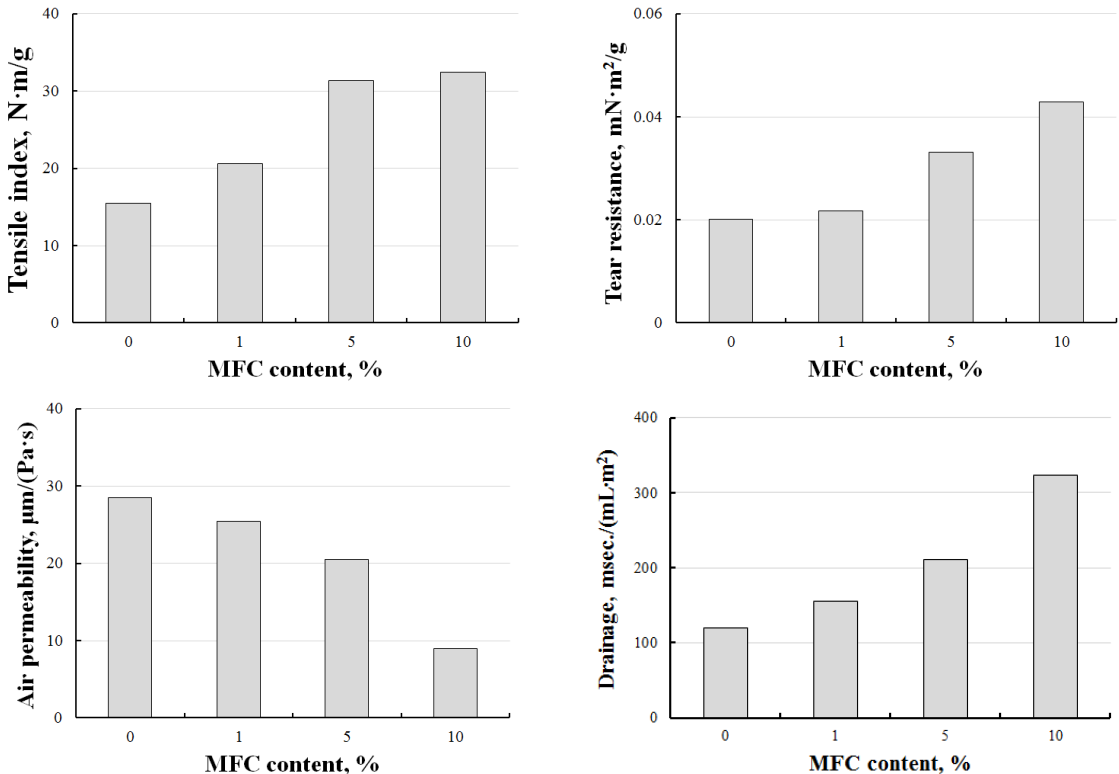


Fig. 8. Physical properties of handsheet at different MFC content.

4. 결론

본 연구에서는 MFC의 단점인 제조 동력비를 줄이기 위하여 enzyme beating의 에너지 절감 효과를 알아보고 enzyme beating을 통해 제조한 MFC의 물성과 초지 중 첨가했을 때의 효과를 평가하였다. Enzyme beating을 실시 한 결과 동일한 여수도에 도달하는데 걸리는 시간이 enzyme beating으로 인해 감소하였으며 Endo-D가 3종류의 효소 중 가장 좋은 효과를 나타내었다. Enzyme beating 후 그라인딩 처리 하여 제조한 MFC의 물성은 그라인더 통과 횟수가 증가할수록 점도와 미세 섬유유의 양이 증가하며 결정화도는 감소하였으며 MFC sheet 표면의 공극도 거의 관찰되지 않았다. MFC의 장폭비는 그라인더 5회 이상 통과시켰을 때 가장 높은 결과가 나타났으며 이후에는 장폭비가 소폭 감소하였다. 그라인더에 10회 이상 통과시켰을 때 물성의 변화가 거의 없었으며 non-enzyme보다 enzyme beating 한 시료가 점도는 낮고 결정화도는 높은 결과를 나타냈다. 3종류의 효소 중 가장 효과가 좋을 것으로 기대되는 Endo-D를 그라인더에 10회 통과한 MFC를 초지 중에 첨가하였으며 제조한 수초지의 물성은 MFC 첨가량이 증가할수록 인장강도와 인열강도는 상승하고 투기도는 감소하였으나 탈수에 어려움이 있었다. 따라서 enzyme beating을 통해 MFC 제조 시 에너지 절감효과를 기대할 수 있으며 사용한 3종류의 효소 중 Endo-D의 효과가 가장 우수하였다.

사사

이 논문은 2013년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업임 (NRF-2013R1A1A4A01007750).

Literature Cited

1. Afra, E., Yousefi, H., Hadilam, M. M., and Nishino, T., Comparative effect of mechanical beating and nanofibrillation of cellulose on paper properties made from bagasse and soft-

- wood pulps, *Carbohydrate Polymers* 97:725–730 (2013).
2. Gonzalez, I., Vilaseca, F., Alcala, M., Pelach, M. A., Boufi, S., and Mutje, P., Effect of the combination of biobeating and NFC on the physico-mechanical properties of paper, *Cellulose* 20:1425–1435 (2013).
3. Kajanto, I. and Kosonen, M., The potential use of micro- and nano- fibrillated cellulose as a reinforcing element in paper, *Journal of Science & Technology for Forest Products and Processes* 2(6):42–48 (2012).
4. Chun, S. J., Lee, S. Y., Doh, G. H., Lee, S., and Kim, J. H., Preparation of ultrastrength nanopapers using cellulose nanofibrils, *Journal of Industrial Engineering Chemistry* 17:521–526 (2011).
5. Pääkkö, M., Ankerfors, M., Kosonen, H., Nykänen, A., Ahola, S., Österberg, M., Rukolainen, J., Laine, J., Larsson, P. T., Ikkala, O., and Lindström, T., Enzymatic hydrolysis combined with mechanical shearing and high-pressure homogenization for nanoscale cellulose fibrils and strong gel, *Biomacromolecules* 8(6):1934–1941 (2007).
6. Jang, J. H., Kwon, G. J., Kim, J. H., Kwon, S. M., Yoon, S. L., and Kim, N. H., Preparation of cellulose nanofibers from domestic plantation resources, *Journal of Korean Wood Science & Technology* 40(3):156–163 (2012).
7. Henriksson, M., Henriksson, G., Berglund, L. A., and Lindstrom, T., An environmentally friendly method for enzyme-assisted preparation of microfibrillated cellulose (MFC) nanofibers, *European Polymer Journal* 43:3434–3441 (2007).
8. Nechyporchuk, O., Pignon, F., and Belgacem, M. N., Morphological properties of nanofibrillated cellulose produced using wet grinding as an ultimate fibrillation process, *Journal of Materials Science* 50:531–541 (2015).

9. Kim, K. J., Jung, J. D., Jung, S. E., Ahn, E. B., and Eom, T. J., Enzyme activity and beating properties for preparation of microfibrillated cellulose (MFC), *Journal of Korea TAPPI* 47(1):59–65 (2015).
10. Ahn, E. B., Jung, J. D., Jung, S. E., Kim, K. J., and Eom, T. J., Beating properties with swelling agent and concentration for preparation of microfibrillated cellulose (MFC), *Journal of Korea TAPPI* 47(3):3–10 (2015).
11. Segal, L., Creely, J. J., Martin, A. E., and Cornrad, C. M., An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the X-Ray diffractometer, *Textile Research Journal* 29:786–794 (1959).
12. Ryu, J. H., Fundamental properties of nanofibrillated cellulose in suspension and mat states, Ph.D. Thesis, Seoul National University (2013).
13. Siro, I. and Plackett, D., Microfibrillated cellulose and new nanocomposite material: A review, *Cellulose* 17:459–494 (2010).
14. Qing, Y., Sabo, R., Zhu, J. Y., Agarwal, U., Cai, Z., and Wu, Y., A comparative study of cellulose nanofibrils disintegrated via multiple processing approaches, *Carbohydrate Polymers* 97:226–234 (2013).