

효소반응에 의한 Kraft Pulp의 표백효율 향상

류근갑[†] · 노석용

울산대학교 화학공학과

(1996년 4월 25일 접수, 1996년 7월 9일 채택)

Enhancement of the Bleaching Efficiency of Kraft Pulp by Enzymatic Pretreatments

Keun-Garp Ryu[†] and Seok-Yong Rho

Dept. of Chem. Eng., College of Eng., The Univ. of Ulsan, Ulsan 680-749

(Received 25 April 1996; accepted 9 July 1996)

요 약

Xylanase 및 peroxidase를 이용하여 kraft pulp의 표백효율을 향상시키기 위한 방법을 연구하였다. Xylanase를 이용한 kraft pulp의 표백효율은 pH 9 완충용액에서 가장 높았으며, 40-50°C에서 3시간 이상 반응할 경우 충분한 표백효율을 얻을 수 있었다. Kraft pulp의 표백효율은 xylanase만을 사용하였을 경우보다 xylanase와 함께 peroxidase, H₂O₂(0.1 mM) 및 페놀성 물질(1 mM)을 사용할 경우 더욱 증가하였다. 페놀성 물질 중 guaiacol을 사용할 경우 표백효율이 가장 높았다. Scale-up(5 L 액상반응기) 실험에서는 xylanase와 peroxidase의 활성이 교반에 의한 shear force에 의하여 감소하였다. 또한 guaiacol을 radical carrier로서 사용할 경우 pulp용액에 H₂O₂, guaiacol, peroxidase의 순으로 주기적으로 첨가하였을 경우 가장 높은 표백효율을 얻을 수 있었으며, 이때 kraft pulp의 kappa number는 초기의 18.25에서 효소반응 및 NaOH(0.5 N) 추출 후 9.62로 감소하였다. 또한 효소를 사용함으로써 kraft pulp의 알칼리추출 효율을 크게 향상시킬 수 있었다.

Abstract—The pretreatments of kraft pulp with an alkaline xylanase and a peroxidase were studied to enhance the bleaching efficiency. Xylanase was most effective in a buffer solution of pH 9. The pretreatment of kraft pulp with xylanase for more than 3 hours at 40°C resulted in a sufficient bleaching effect. The pretreatments of kraft pulp with the simultaneous use of xylanase, peroxidase, H₂O₂(0.1 mM), and a phenolic compound(1 mM) increased the bleaching efficiency as compared to the pretreatments with xylanase only. Guaiacol was most effective among the phenolic compounds used. Results from scaled-up pretreatments(5 L reactor) of kraft pulp showed that xylanase and peroxidase can lose their activities by the shear force caused by the agitation of the pulp solution. Intermittent addition of H₂O₂, guaiacol, and peroxidase, in this turn, resulted in the best bleaching efficiency of kraft pulp. In this case the kappa number of kraft pulp decreased from the initial value of 18.25 to 9.62 after the enzymatic pretreatment followed by an alkaline extraction in a 0.5 N NaOH solution. Enzymatic pretreatments of kraft pulp enhanced the alkaline extraction efficiency to a great extent.

Key words: Enzyme, Bleaching, Kraft-Pulp, Xylanase, Peroxidase

1. 서 론

인쇄용지의 원료인 표백 kraft pulp는 NaOH를 사용하는 알칼리 추출공정과 chlorine 및 chlorine dioxide 등 염소성 물질을 사용하는 표백공정에 의하여 목질에 포함되어 있는 lignin을 제거함으로써 생산되고 있다[1]. 알칼리 추출공정에서 사용된 NaOH는 거의 전량 회수되어 재사용되고 있으나 회수공정에서 많은 에너지가 소요되고 있다. 또한 표백공정에서 사용되고 있는 염소성 물질들은 pulp 생산 공정에서 발생하는 폐기물 및 폐수에 함유되어 환경오염을 일으키는 원인이 되고 있다[2]. 따라서 염소성 물질을 사용하고 있는 표백 공정을 비염소성 물질을 사용하는 공정으로 대체하려는 연구가 활발히 시도되어 왔다. 비염소 방법을 이용하여 pulp를 표백하기 위한

공정의 예를 들면, 산소, 오존 및 과산화수소 등을 이용한 화학적 방법[3]과 자연상태에서 목질을 분해시키는 white-rot fungi를 이용한 미생물공정[4], 효소를 이용한 방법[5] 및 Hemin과 같은 활성단백질을 이용한 방법[6]들이 연구되고 있다. 그러나 산소, 오존 및 과산화수소를 이용한 화학적 표백방법은 실제 공정에 적용할 경우 안전성(산소), 안정성(오존) 및 장치의 부식(과산화수소) 등의 문제점이 발생하고 있다. 미생물을 이용한 방법은 시간이 많이 걸리며, 재현성이 부족한 단점을 지니고 있으므로 주로 원료목재들의 보관시에 사용하여 알칼리 추출공정의 효율을 높이기 위한 방법으로 사용되고 있다[7]. 효소를 이용한 방법은 반응조건이 극한적이 아니고 미생물에 비하여 작용시간이 짧으며 이차오염물질을 거의 발생시키지 않는 장점이 있다. 그러나 현재의 기술로서는 효소만을 사용해서는 충분한 표

백효과를 얻기 어렵다. 따라서 표백효율이 높은 효소의 개발과 효소 반응과 다른 표백방법을 병행하여 충분한 표백효과를 얻으면서 오염 물질의 사용량을 줄이려는 연구가 활발히 시도되고 있다[8-11].

Kraft pulp의 표백을 위하여 가장 효과적으로 사용되고 있는 효소는 pulp의 성분인 cellulose와 lignin 사이에서 가교 역할을 하고 있는 hemicellulose를 분해하는 xylanase이다. 즉 lignin을 직접 분해하기 보다는 hemicellulose를 가수분해시킴으로서 알칼리 추출 및 기존의 염소물질에 의한 lignin 추출효과를 향상시킬 수 있다[5, 12]. 류[13]는 Novo Nordisk(Denmark)에서 상업적으로 제공되고 있는 xylanase(상품명: Pulpzyme HB)를 사용하여 국내에서 생산되고 있는 미표백 kraft pulp[동해펄프(주)]를 처리한 결과 알칼리추출 및 염소추출공정의 효율이 향상됨을 보였다. 한편 peroxidase는 생물세포 내에서 lignin의 합성에 관련된 것으로 알려져 있다[14]. 그러나 생성된 lignin은 수용액에 용해되지 않음으로 peroxidase에 의하여 쉽게 분해되지 않으며 자연상태에서는 white rot fungi에 의하여 서서히 분해된다[15]. 따라서 peroxidase와 pulp에 함유되어 있는 lignin과는 반응성이 미약할 것으로 예상되며 peroxidase를 사용하였을 경우 pulp의 표백효과가 없음을 보였다[5]. 그러나 류[13]는 xylanase와 peroxidase를 동시에 사용할 경우, peroxidase의 기질인 guaiacol (1 mM)과 H_2O_2 (0.1 mM)를 첨가하면 kraft pulp의 표백효율이 증가됨을 보였다. 그러나 H_2O_2 의 농도를 높이거나 guaiacol 대신 phenol이나 *p*-chlorophenol을 사용할 경우에는 kraft pulp의 표백효율이 오히려 감소함을 보여주었다. 이러한 결과는 peroxidase와 낮은 농도의 H_2O_2 에 의하여 생성된 guaiacol radical이 lignin의 분해를 촉진시킬 수 있음을 보여주는 것이다. 이와 비슷한 연구는 최근에 다른 연구자에 의해서도 보고되었다. 즉 Paice[16] 등은 laccase에 의한 kraft pulp의 표백반응에서 ABTS(2,2'-azino[3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonate])를 첨가하면 표백효율이 증가함을 보였다.

본 연구에서는 Novo Nordisk에서 최근에 개발된 알칼리 용액(pH 9)에서 활성이 높은 xylanase를 사용하여 국내에서 생산되고 있는 미표백 kraft pulp의 표백을 위한 최적반응 조건을 연구하였다. 특히 peroxidase를 xylanase와 함께 사용하여 표백효율을 증가시키기 위한 연구를 5 L 액상반응기를 이용한 scale-up 실험을 통하여 중점적으로 시행하여 실제 공정에 적용할 경우 예상되는 문제점들을 파악하였다. 또한 효소반응이 kraft pulp의 알칼리 추출효율에 미치는 영향을 실험하여 알칼리 사용량을 줄일 수 있는 가능성을 조사하였다.

2. 재료 및 실험방법

2-1. 재료

본 실험에서 사용한 phenol은 Aldrich Chemical Co.(U.S.A.)에서 구입하였으며 기타 시약들은 Sigma Chemical Co.(U.S.A.)에서 구입하였다. Xylanase(EC 3.2.1.8, Pulpzyme HC)와 peroxidase(EC 1.11.1.7)는 갈색 액체제품 상태로서 Novo Nordisk A/S(Basvaerd, Denmark)에서 기증하였다. 본 연구에서 사용한 xylanase의 활성은 500 EXU (endo-1,4-beta-D-xylanase unit)/g이며 cellulase 활성은 없었다. Novo Nordisk사에서 제공한 peroxidase의 활성은 10000 units/g이었다. 본 실험에서 사용한 미표백 kraft pulp는 동해펄프(주)에서 제공하였다.

2-2. Kappa number 측정방법

Pulp의 lignin함량은 kappa number로 나타내었다. Kappa number는 o.d.(oven dried) pulp 1g을 산화시키기 위하여 필요한 0.1 N $KMnO_4$ 의 부피(mL)로서 정의되며 구체적인 측정방법은 TAPPI T 236 cm⁸⁵에서 제시되어 있다. Pulp의 lignin 함량(%)은 kappa number를 7로 나눈 값과 거의 같다[12].

2-3. 효소활성 측정

본 실험에서 사용한 xylanase 및 peroxidase의 활성은 Novo Nordisk사에서 측정된 결과를 이용하여 나타내었으며 구체적인 측정방법은 다음과 같다. Peroxidase의 활성은 30°C에서 기질인 H_2O_2 (0.88 mM)와 ABTS (1.67 mM)가 포함되어 있는 완충용액(50 mM KH_2PO_4 , pH 7.0)에서의 반응을 이용하여 측정한다. Peroxidase의 활성은 1분 동안 1 μ mol의 H_2O_2 가 반응할 경우를 1 unit으로 나타낸다. Xylanase의 활성은 50°C에서 RBB(Remazol Brilliant Blue)-xylan(Fluka, Switzerland)의 함량이 0.5%(0.5 g/100 mL)인 완충용액(50 mM glycine, pH 9.0)에서의 반응을 이용하여 측정한다. Xylanase의 활성은 1분 동안 1 μ mol의 xylose가 생성될 경우를 1 unit으로 나타낸다.

2-4. Flask-scale(250 mL Erlenmeyer)에서 kraft pulp의 효소반응

Kraft pulp의 표백을 위한 최적 효소반응조건(반응온도, 반응시간, pH)은 아래와 같은 효소반응 실험을 통하여 결정되었다. 즉, 건조된 미표백 kraft pulp를 tap water에 침지하여 실온에서 약 1일간 방치한 후 여과에 의하여 탈수하였다. 탈수된 pulp시료를 적절한 완충용액에 넣은 후 약 12시간 동안 실온에서 방치하여 평형에 도달하도록 하였다. 이 pulp시료를 여과에 의하여 탈수한 후 15 g(wet pulp, 27.5% consistency)을 250 mL flask에 넣고 약 90 mL의 완충용액을 투입하여 최종 consistency(% solid content)가 4%가 되도록 조정하였다. 항온교반기 내에서 용액의 온도를 40-50°C로 증가시킨 후, 효소를 투입하고 교반(150 rpm)하면서 일정 시간 동안(최대 4시간) 반응시켰다. 반응 후 pulp시료는 여과, 증류수 세척, 재여과 과정을 거친 후 알칼리 용액으로 추출하였다.

2-5. 액상반응기(5 L)에서 kraft pulp의 효소반응

건조된 미표백 kraft pulp 80 g과 완충용액 1.9 L를 5 L 크기의 액상반응기(직경: 높이=17 cm \times 25 cm)에 투입한 후, 약 4시간 동안 70 rpm으로 교반시키면서 용액의 온도가 40°C에 도달하도록 하였다. 효소용액을 추가로 투입하여 전체부피가 2 L가 되도록 한 후 약 3시간 동안 반응시켰다. 반응 후 pulp시료는 여과, 증류수세척, 재여과 과정을 거친 후 알칼리 용액으로 추출하였다.

2-6. Pulp의 알칼리 추출방법

효소반응 후의 pulp 시료는 다음과 같은 방법에 따라서 알칼리 용액으로 추출하였다. Wet pulp 15 g(35% consistency)과 NaOH 용액(0.5 N)을 250 mL flask에 투입한 후 70°C, 90분간 항온교반기로 교반시키면서 추출하였다. 이때의 pulp consistency는 5%였다. 알칼리 추출된 pulp시료는 여과, 증류수세척, 재여과 과정을 거친 후 kappa number를 측정하였다.

3. 실험결과 및 고찰

3-1. Xylanase를 이용한 pulp 표백 반응조건의 최적화

본 실험에서는 알칼리 조건에서 활성이 우수한 상업용 조효소인 xylanase를 이용하여 우리 나라에서 생산되고 있는 미표백 kraft pulp를 처리할 경우, 최적 반응조건(용액의 pH, 효소사용량, 반응온도 및 반응시간)을 수립하였다. Wet pulp(27.5% consistency) 15 g과 xylanase 60 μ L(7300 EXU/kg o.d. pulp)를 250 mL flask에 넣고 완충용액을 가하여 최종용액의 consistency가 4%가 되도록 하였다. Pulp의 kappa number는 tap water 침지 후 16.5에서 완충용액(pH 범위 7-10)에 침지한 후에는 14.5로 감소하였다. 효소반응은 50°C에서 3시간 동안 실시하였다. Fig. 1에는 반응용액의 pH를 6-10의 사이에서 변화시켰을 경우 효소반응 및 알칼리추출을 거친 최종 pulp시료

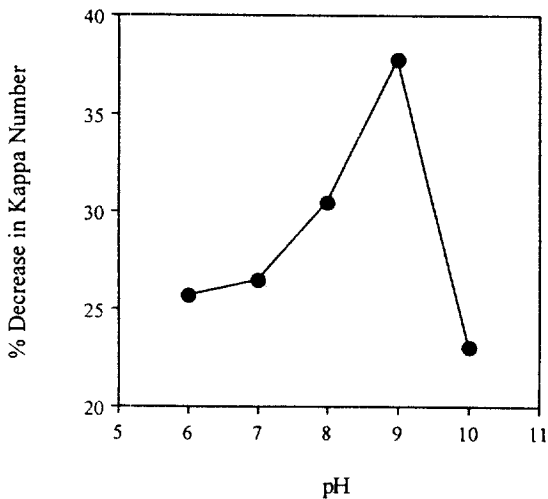


Fig. 1. Effects of solution pH on the efficiency of pulp treatments with a xylanase. Buffers used were KH_2PO_4 (pH 6, 7, 8), NaCO_3 (pH 9), and $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ (pH 10) at 100 mM each. Values of % decrease of kappa number were calculated based on the kappa number of 14.5 after soaking in tap water followed by the equilibration in each buffer. Other conditions for the pulp treatment are described in the text.

의 kappa number 감소율(효소반응 직전 pulp시료의 kappa number에 대한 %)을 나타내었다. 반응용액의 pH가 9일 경우 효소반응의 효율이 가장 높았으며 이때 kappa number의 감소율은 37.7%였다. 미표백 kraft pulp는 알칼리 증해(cooking) 공정을 통하여 생산되므로 효소반응의 최적 pH가 높을수록 미표백 pulp의 pH를 낮추기 위하여 필요한 acid의 사용량을 감소시킬 수 있는 장점이 있다.

Xylanase는 pulp에 흡착하는 경향이 있으며 흡착에 의하여 pulp와 반응효율이 저하될 수 있다[17]. 따라서 xylanase와 pulp사이의 반응성은 사용하는 효소의 양에 따라 결정된다. 즉 효소를 pulp에 최대 흡착할 수 있는 정도 이상으로 사용할 경우 충분한 효과를 예측할 수 있다. 본 연구에서는 xylanase와 kraft pulp사이의 반응효율이 가장 높은 것으로 밝혀진 반응용액(100 mM NaCO_3 , pH 9)에서 효소의 첨가량을 wet pulp 15g당 최대 60 μL 까지 증가시키면서 pulp의 표백효율을 측정하였다. Fig. 2에 나타난 것과 같이 효소의 사용량이 6 μL 일 경우 kappa number가 효소반응 전 14.5에서 효소반응 및 알칼리 추출 후 9.36으로 약 35.4% 감소하였다. 효소의 사용량을 60 μL 으로 10배 증가시켰을 경우 kappa number는 39.4% 감소하였다. 즉 효소를 wet pulp 15g당 6 μL 이상 사용하면 충분한 표백효과를 얻을 수 있으며, kappa number의 감소율은 약 35-40% 범위에서 사용하는 효소의 양에 크게 변화하지 않음을 알 수 있었다.

효소반응의 효율은 반응온도 및 시간에 따라서 변하므로 본 연구에서는 반응온도가 각각 40 및 50°C일 때 반응시간의 증가에 따른 pulp의 kappa number 감소율을 측정하였다. Xylanase의 사용량은 wet pulp 15g당 60 μL 였으며 완충용액은 100 mM NaCO_3 (pH 9)이었다. Fig. 3에는 각 반응온도(40, 50°C)에서 반응이 최대 4시간까지 계속될 경우 시간에 따른 kappa number의 감소율을 나타내었다. 각 반응온도에서 kappa number는 처음 3시간 동안 감소한 후 이후에는 더 이상 감소하지 않았다. 또한 kappa number는 반응온도 40°C에서 50°C보다 약간 더 감소하였다. 이와 같은 결과는 xylanase의 활성이 50°C에서 감소했음을 나타내는 것이다. 이상과 같은 실험을 통하여, xylanase를 이용한 kraft pulp 표백반응은 wet pulp(27.5% consistency) 15g당 6 μL 이상의 xylanase를 사용하여 40°C, pH 9 용액에서 3시간

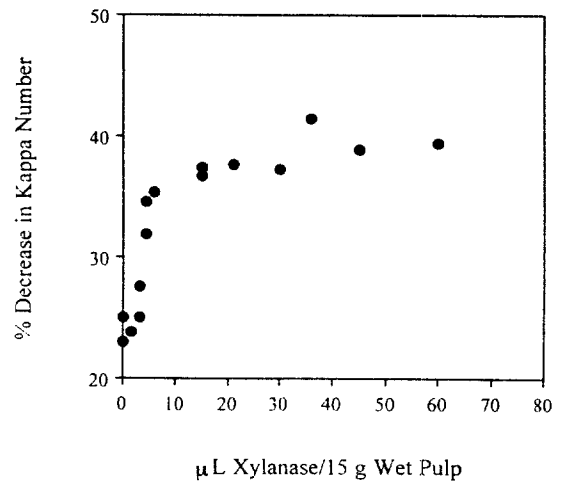


Fig. 2. Effects of xylanase loading on the efficiency of the pulp treatment in a buffer solution of 100 mM KH_2PO_4 , pH 9.

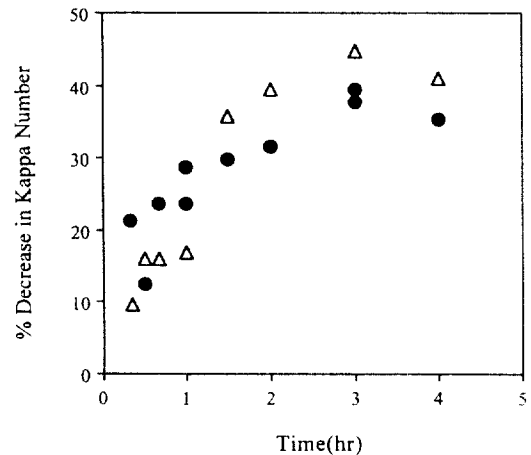


Fig. 3. Increase in the bleaching efficiency of pulp with treatment time at 40°C(Δ) and 50°C(●), respectively. Other conditions for the pulp treatment with xylanase are described in the text.

동안 실시할 경우 최고의 표백효율을 얻을 수 있었다.

3-2. 라디칼 전달물질을 이용한 kraft pulp의 표백

Peroxidase는 자연상태에서 lignin의 합성에 관여하는 것으로 알려져 있으나 kraft pulp의 표백효율은 미약한 것으로 알려져 있다[5]. 이는 고온의 알칼리 증해공정을 거친 미표백 kraft pulp의 lignin 구조가 자연상태에서의 lignin의 구조와 다르며 lignin이 수용액에서 용해되지 않기 때문인 것으로 생각되고 있다[5]. 그러나 류[13]의 실험결과에 의하면 낮은 농도의 guaiacol(1 mM)과 H_2O_2 (0.1 mM)을 첨가하면 표백효율을 증가시킬 수 있음을 알 수 있었다.

본 실험에서는 guaiacol 외에 전자공여성 치환기를 가진 phenol성 물질인 4-ethoxy, 3,4-dimethoxy, 2,6-dimethoxyphenol 등이 펄프표백효율에 미치는 영향을 조사하였으며 그 결과는 Table 1에 나타났다. Xylanase와 peroxidase의 사용량은 o.d. pulp 1kg당 각각 7200 EXU와 3×10^5 units이었다. 류[13]의 실험에서는 H_2O_2 의 농도가 0.1 mM 이상으로 증가할 경우 오히려 pulp 표백효율이 감소하는 것으로 나타났다. 따라서 본 실험에서는 H_2O_2 및 phenol성 물질을 첨가하여 최종 농도($\text{H}_2\text{O}_2=0.1$ mM; guaiacol=1 mM)로 희석시킨 후 perox-

Table 1. Effects of phenols as radical carriers on the bleaching efficiency of kraft pulp with xylanase and peroxidase

Phenols added	Kappa number after extraction in 0.5 N NaOH
No phenol added	9.74
3,4-Dimethoxyphenol(1 mM)	9.93
2,6-Dimethoxyphenol(1 mM)	10.15
4-Ethoxyphenol(1 mM)	9.72
Guaiacol(1 mM)	9.60
Guaiacol(2 mM)	9.11

Experimental details are described in the text. Each kappa number is the average of the triplicated values. The numbers in the parentheses are the initial concentrations of phenols.

idase를 투입하였다. 효소반응 및 알칼리 추출 후 pulp시료의 kappa number는 phenol성 물질을 첨가하지 않았을 경우에는 9.74였으며 guaiacol 또는 4-ethoxyphenol을 첨가하였을 경우에는 각각 9.60과 9.72로 감소하였다. 또한 guaiacol의 농도를 2mM로 증가시켰을 경우에는 kappa number가 9.11로 더욱 감소하였다. 그러나 3,4-dimethoxyphenol이나 2,6-dimethoxyphenol을 1mM 첨가하였을 경우에는 kappa number가 각각 9.93과 10.15로서 phenol물질을 첨가하지 않았을 경우보다 약간 증가하였다. 이와 같은 결과에서 효소반응에 의한 kraft pulp의 표백을 위해서는 라디칼 전달물질로서 guaiacol이 가장 적합함을 알 수 있었다.

3-3. 라디칼 전달물질을 이용한 kraft pulp 표백의 scale-up실험

위의 실험에서 xylanase와 함께 peroxidase, H_2O_2 및 guaiacol을 사용할 경우 pulp 표백효율을 약간 증가시킬 수 있음이 밝혀졌다. Peroxidase 반응에서 소모되는 H_2O_2 와 guaiacol의 몰비율은 이론상 1:2이다. 따라서 flask실험의 경우와 같은 회분식 반응에서는 초기에 투입한 0.1mM의 H_2O_2 가 소모될 경우 peroxidase의 반응이 종료된다. 그러므로 radical carrier로서 반응초기에 첨가한 guaiacol 1mM 중 이론적으로는 0.8mM이 미반응되어 용액 중에 남아있게 된다. 따라서 첨가해준 guaiacol을 계속 사용하기 위해서는 반응 중 계속 H_2O_2 를 보충해 주어야 한다. 그러나 pulp의 표백효율은 H_2O_2 의 농도가 0.1mM 이상일 경우 감소하므로 H_2O_2 의 공급방법에 따라서 영향을 받을 것으로 예상된다.

본 연구에서는 5L 원통형 액상반응기를 이용하여 (1) 초기에 xylanase, peroxidase 및 guaiacol(1 mM)을 투입한 후 총 1mM의 H_2O_2 를 여러 가지 속도로 연속 공급, (2) 초기에 xylanase, peroxidase, guaiacol(0.1 mM) 및 H_2O_2 (0.1 mM)를 투입한 후 30분마다 H_2O_2 (0.1 mM)와 guaiacol(0.1 mM)을 총 5회 투입, (3) (2)의 방법에서 반응개시 후 30분마다 H_2O_2 및 guaiacol을 투입하여 교반한 직후 peroxidase를 추가로 투입하는 방법 등에 대하여 실험을 하였으며 그 결과는 Table 2에 나타났다. 1회 실험에 사용한 pulp의 건조무게는 80g이었으며 총 반응용액의 부피는 2L였다. Pulp용액은 motor에 의한 propeller type impeller를 이용하여 70 rpm으로 교반하였으며 효소반응은 40°C에서 3시간 동안 실행하였다. Table 1에 나타난 것과 같이 xylanase만을 사용하였을 경우에는 알칼리 추출 후 pulp의 kappa number는 11.19로서 앞의 flask 실험에 비교하면 표백효율이 저하되었다. 이는 액상반응기에서 교반으로 인한 shear force에 의하여 xylanase의 활성이 감소함을 나타낸다. 그러나 반응용액의 교반속도를 70 rpm 이하로 낮춘 경우에는 고른 교반효과를 얻을 수 없었다. 또한 xylanase와 함께 peroxidase, H_2O_2 (0.1 mM) 및 guaiacol(1 mM)을 함께 사용했을 경우, 최종 pulp시료의 kappa number는 12.57로서 xy-

Table 2. Effects of various enzymatic treatments on the bleaching efficiency of kraft pulp with xylanase

Treatments methods	Kappa number after extraction in 0.5 N NaOH
- Batch operation -	
xylanase	11.19
xylanase + peroxidase + guaiacol(1 mM)	12.57
+ H_2O_2 (0.1 mM)	
Continuous feeding of H_2O_2 -	
feeding rate;	
2.1 mL/min	14.60
1.5 mL/min	14.49
0.7 mL/min	14.23
- Intermittent feeding of H_2O_2 and guaiacol -	
H_2O_2 : Guaiacol=1 mol : 2 mol	13.30
H_2O_2 : Guaiacol=1 mol : 1.5 mol	13.10
H_2O_2 : Guaiacol=1 mol : 1 mol	13.01
- Intermittent feeding of H_2O_2 , guaiacol and peroxidase -	
H_2O_2 : Guaiacol=1 mol : 1 mol	9.52

Each enzymatic treatment of kraft pulp was performed at 40°C for 3 hr with agitation at 70 rpm in a 5 L reactor. Each kappa number is the average of the triplicated values. Details of experimental methods are described in the text.

lanase만을 사용했을 경우보다 표백효율이 오히려 감소하였다. 이는 peroxidase의 활성 역시 교반으로 인한 shear force에 의하여 감소되기 때문인 것으로 추측되었다.

H_2O_2 의 농도가 0.1 mM 이상으로 높을 경우에는 radical carrier의 효과가 없는 것으로 밝혀졌으므로[13], 본 실험에서는 pulp용액에 xylanase 및 peroxidase와 함께 guaiacol 1mM을 가하여 용액의 총 부피가 1.9L가 되도록 한 후 20 mM H_2O_2 용액 100 mL를 연속적으로 주입하였다. H_2O_2 의 공급속도를 0.7, 1.5 및 2.1 mL/min로 변화시켰을 때 각각의 경우 알칼리 추출 후 최종 pulp시료의 kappa number는 14.23, 14.49, 14.60이었다. 즉 H_2O_2 의 공급속도가 느릴수록 표백효율이 약간 증가하였다. 그러나 xylanase만을 사용하였을 경우보다는 표백효율이 저하되었다. 이는 공급되고 있는 H_2O_2 가 20 mM의 고농도 용액이기 때문에 펄프용액 전체를 기준으로 할 경우에는 H_2O_2 의 농도가 낮으나 H_2O_2 용액이 투입되는 지점의 부분적인 H_2O_2 농도는 20 mM 정도로 상당히 높을 것으로 예상된다. 따라서 H_2O_2 가 공급되는 순간에 pulp용액에는 이미 peroxidase와 guaiacol이 존재하므로 실제로는 고농도의 H_2O_2 에서 peroxidase반응이 부분적으로 일어날 수 있다. 따라서 초기에 peroxidase 및 guaiacol이 가해진 경우에는 H_2O_2 용액을 연속적으로 공급하는 방법은 바람직하지 않음을 알 수 있었다.

다음 실험에서는 pulp용액에 xylanase와 peroxidase만을 투입하여 총 부피가 1.9L가 되도록 한 후 20 mM H_2O_2 용액을 10 mL 가하여 전체용액부피 기준 H_2O_2 의 농도가 약 0.1 mM가 되도록 하였다. H_2O_2 용액을 가하는 순간에 pulp용액에는 guaiacol이 없으므로 peroxidase반응은 일어나지 않는다. 약 2분 정도 전체 용액을 교반하여 pulp용액의 H_2O_2 농도를 균일하게 한 후 guaiacol을 가하였다. 이러한 방법에 의하여 H_2O_2 를 가하는 순간 부분적인 고농도 H_2O_2 에 의한 표백효율의 감소현상을 방지하고자 하였다. 반응이 시작된 지 30분 후 다시 20 mM H_2O_2 용액을 10 mL 가하고 약 2분간 교반한 후 guaiacol 용액을 가하였으며 이를 총 5회 반복하였다. 따라서 용액에 가해진 H_2O_2 의 총 농도는 0.5 mM이 되었다. H_2O_2 를 pulp 용액에 두 번째로 가할 때부터는 pulp용액에 반응하지 않은 guaiacol이 잔류하고 있을 경우에는 H_2O_2 용액을 연속적으로 공급할 경우와 같이 부분

Table 3. Effects of enzymatic treatments on the alkaline-extraction efficiency of kraft pulp at various concentration of NaOH (N). Numbers in the table are the kappa numbers of the final pulp samples after enzymatic treatment followed by the alkaline extractions

Treatment / NaOH(N)	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
Blank with no enzymes	18.25	16.25	15.27	14.59	14.46	13.97
Xylanase only	14.55	13.88	12.96	12.60	12.47	11.19
Guaiaicol system	11.25	10.60	10.55	10.13	10.07	9.62

Experimental details are described in the text. Each kappa number is the average of the triplicated values.

적으로 고농도 H_2O_2 에 의한 peroxidase반응이 발생하여 펄프표백 효율을 감소시킬 가능성이 있다. 본 실험에서는 매회 첨가하는 H_2O_2 와 guaiaicol의 몰농도비를 1:2, 1:1.5, 1:1로 변화시키면서 표백효율을 비교하였다. 이론적인 peroxidase반응식에 따르면 H_2O_2 와 guaiaicol의 반응몰비는 1:2이나 실제반응의 경우에는 1:1이 됨을 보여주고 있다[18-20]. 본 실험에서도 Table 1에서와 같이 매회 첨가하는 H_2O_2 와 guaiaicol의 몰농도비가 1:1일 경우 표백효율이 가장 우수하였으며 이때 알칼리 추출 후 최종 pulp시료의 kappa number는 13.0이였다. 그러나 이 값은 xylanase만을 사용했을 때의 최종 pulp시료의 kappa number인 11.19보다 높았다. 본 연구에서는 최종적으로 반응개시 후 매회 H_2O_2 와 guaiaicol을 첨가한 직후 peroxidase(1.34×10^5 units/kg o. d. pulp)를 첨가하였다. 따라서 반응을 통하여 가한 peroxidase의 총량은 8.36×10^5 units/kg o. d. pulp가 되었다. 이때 최종 pulp시료의 kappa number는 9.62로서 표백효율이 가장 우수하였으며 xylanase만을 사용했을 경우에 비교하여 kappa number가 1.57 감소하였다.

3-4. 효소반응이 kraft pulp의 알칼리 추출효율에 미치는 영향

Kraft pulp의 제조과정 중 알칼리 추출과정에서 많은 양의 NaOH가 사용되고 있다. 사용된 NaOH는 거의 전량 회수되어 재사용되고 있으나 NaOH의 회수를 위하여 많은 에너지가 소모되고 있다. 따라서 효소반응에 의하여 kraft pulp의 알칼리 추출효율을 높이면 kraft pulp 제조과정의 에너지 효율을 향상시킬 수 있다. 본 연구에서는 5 L 액상반응기를 이용한 여러 가지 효소반응 방법 중 (1) 효소를 사용하지 않았을 경우(blank treatment), (2) xylanase만을 사용하였을 경우와, (3) xylanase와 함께 H_2O_2 , guaiaicol 및 peroxidase를 주기적으로 첨가한 경우(이후 xylanase+peroxidase + guaiaicol system으로 나타냄) 효소반응 후 각각의 pulp시료를 알칼리 추출할 때 NaOH의 농도를 0-0.5 N로 변화시키면서 추출하였다. Table 3에 나타난 것과 같이 효소를 사용하여 pulp를 처리하면 효소를 사용하지 않았을 때와 비교하여 알칼리 추출효율이 크게 증가하였다. 즉 효소를 사용하지 않았을 경우, 0.5 N NaOH 용액에 의한 추출시 최종 pulp시료의 kappa number는 13.97이었으나 xylanase를 이용하여 pulp를 처리하였을 경우에는 추출시 0.1 N NaOH를 사용하더라도 최종 pulp시료의 kappa number는 13.88로서 표백효율이 더 높았다. 또한 xylanase + peroxidase + guaiaicol system을 이용하여 pulp를 처리하였을 경우에는 xylanase만을 사용하였을 경우보다 추출효율이 더욱 향상되었다.

4. 결 론

Xylanase를 이용한 kraft pulp표백반응에서 pH 9 완충용액을 사용할 경우 최적표백효율을 얻을 수 있었으며, 충분한 표백효율을 얻기 위해서는 40°C에서 3시간 이상의 반응시간이 필요함을 알았다. 이

때 xylanase를 720 EXU/kg o. d. pulp 이상 사용해야 했다. 또한 xylanase와 동시에 peroxidase, H_2O_2 및 guaiaicol을 사용하면 kraft pulp의 표백효율을 향상시킬 수 있었다.

Scale-up 실험(5 L 액상반응기)을 통하여 xylanase와 peroxidase의 활성이 반응용액의 교반으로 인한 shear force에 의하여 감소할 수 있음을 알았다. 또한 guaiaicol을 radical carrier로서 사용할 경우에는 H_2O_2 의 첨가 방법에 따라서 표백효율이 변하였으며, H_2O_2 를 연속적으로 공급할 경우보다 소량의 H_2O_2 과 guaiaicol을 몰농도비 1:1로 주기적으로 공급할 경우에 표백효율이 우수하였다. 최종적으로 H_2O_2 및 guaiaicol과 함께 peroxidase를 주기적으로 첨가하였을 경우 가장 높은 표백효율을 얻을 수 있었다. 또한 효소반응에 의하여 kraft pulp의 알칼리 추출효율을 크게 향상시킬 수 있었다.

감 사

본 연구는 한국과학재단의 '95핵심전문연구(과제번호: 951-1104-006-1) 연구비 지원에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다. 또한 본 연구에서 사용한 효소를 제공하여준 Novo Nordisk사와 미표백 kraft pulp를 지원하여 준 동해펄프(주)에 감사드립니다.

참고문헌

- Smook, G.A.: "Handbook for Pulp & Paper Technologists", Canadian Pulp and Paper Association, Montreal(1982).
- Hilleman, B.: *C&E News*, **71**, 11(1993).
- Kinstrey, R.B.: *Tappi J.*, **76**, 105(1993).
- Fujita, K., Kondo, R., Sasaki, K., Kashino, Y., Nishida, T. and Takahara, Y.: *Tappi J.*, **76**, 81(1993).
- Eriksson, K.E.L.: *J. Biotechnol.*, **30**, 149(1993).
- Erismann, N.M., Fernandez, A.M., Baeza, J., Freer, J., Mansilla, H. and Duran, N.: *Biotechnol. Lett.*, **12**, 305(1990).
- Leatham, G.F., Myers, G.C. and Wegner, T.H.: *Tappi J.*, **73**, 197(1990).
- Bajpai, P. and Bajpai, P.K.: *Process Biochem.*, **27**, 319(1992).
- Brown, J., Cheek, M.C., Jameel, H. and Joyce, T.W.: *Tappi J.*, **77**, 105(1994).
- Suurnakki, A., Kantelinen, A., Buchert, J. and Viikari, L.: *Tappi J.*, **77**, 111(1994).
- Yang, J.L., Sacon, V.M., Law, S.E. and Eriksson, K.E.L.: *Tappi J.*, **76**, 91(1993).
- Paice, M.G., Bernier, R. Jr. and Jurasek, L.: *Biotechnol. Bioeng.*, **32**, 235(1988).
- 류근갑: 한국생물공학회지, **10**, 183(1995).
- Harkin, J.M. and Obst, J.R.: *Science*, **181**, 296(1973).
- Harvey, P.J., Schoemaker, H.E. and Palmer, J.M.: *FEBS Letters*, **195**, 242(1986).
- Paice, M.G., Bourbonnais, R. and Reid, I.D.: *Tappi J.*, **78**, 161(1995).
- Kaya, F., Heitmann, J.A. Jr. and Joyce, T.W.: *Tappi J.*, **78**, 150(1995).
- Al-Kassim, L., Taylor K.E., Nicell, J.A., Bewtra, J.K. and Biswas, N.: *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, **61**, 179(1994).
- Nicell, J.A.: *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, **60**, 203(1994).
- Rao, A.M., John, V.T., Gonzalez, R.D., Akkara, J.A. and Kaplan, D.L.: *Biotechnol. Bioeng.*, **41**, 531(1993).