

최 종  
연구보고서

양잠 부산물을 이용한 실크 종이의 제조 및  
제조공정에서 발생하는 실크 세리신의 기능성  
소재 개발

Preparation of Silk Paper from Sericultural By-products and  
Development of Functional Materials from Discarded Silk  
Sericin

연구 기관  
서울대학교

농 립 부

# 제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “양잠 부산물을 이용한 실크 종이의 제조 및 제조공정에서 발생하는 실크 세리신의 기능성 소재 개발” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2006년 7월 일

주관연구기관명 : 서울대학교

총괄연구책임자 : 박영환

연구원 : 이기훈

연구원 : 강경돈

연구원 : 기창석

연구원 : 백두현

연구원 : 오한진

연구원 : 김종욱

협동연구기관명 : 한국화학연구원

협동연구책임자 : 이규호

연구원 : 김인철

연구원 : 최인환

연구원 : 명수완

# 요 약 문

## I. 제 목

양잠 부산물을 이용한 실크 종이의 제조 및 제조공정에서 발생하는 실크 세리신의 기능성 소재 개발

## II. 연구개발의 목적 및 필요성

본 연구는 양잠 부산물인 절각견과 폐뽕나무 가지를 이용하여 실크 종이를 제조하고 제조공정에서 발생하는 또 다른 부산물인 실크 세리신을 가공하여 기능성 소재를 개발하는데 그 목적이 있다. 양잠업에서는 현재 동충하초 등의 재배에 많은 노력을 쏟고 있는데, 이러한 동충하초의 재배에 있어서는 절각견이라는 의류 소재로 이용이 더 이상 불가능한 부산물이 발생한다. 또한 동충하초의 숙주가 되는 누에의 재배에 있어서도 먹이인 뽕나무로부터 많은 뽕나무 가지가 부산물로 발생한다. 현재 이러한 부산물은 폐기되거나 효율적인 재활용이 이루어지고 있지 못하다. 따라서 이러한 부산물을 이용하여 보다 부가가치가 높은 소재를 개발하여 농가의 새로운 소득원을 창출하는 것이 필요하다.

한편 세리신은 실크 정련시 발생하는 단백질로서 대부분 버려지고 있다. 세리신은 천연단백질로서 생체 친화성을 갖고 있으며 세리신을 구성하고 있는 아미노산은 그 용도가 다양해서 세리신을 재활용하여 부가가치를 높일 수 있다. 특히 세리신은 젤화되는 특성이 있어 소비자로 하여금 변성으로 인식하게 한다. 따라서 현재 시판되는 세리신 용액은 그 농도가 1% 미만이다. 이 경우 막대한 물류비용이 발생하며 동결건조하여도 낮은 농도로 인하여 비효율적일 뿐만 아니라 분말이 용해도도 떨어진다. 또한 분말형태의 세리신 제품은 화학적으로 가수분해하여 용해도를 증가시킨 것인데 이 경우 제품의 안정성이 문제가 된다. 따라서 젤화를 억제하고 용해도를 증가시키기 위해서 보다 안정적인 효소를 이용한 저분자화를 시도한다. 또한 동결건조시 효율을 높이기 위해서는 세리신 용액을 농축해야 할 필요가 있는데 세리신 농축을 위해서 증류법을 사용할 경우 에너지 사용이 너무 크며 효율면에서 상당히 떨어진다. 따라서 증류법을 대신하여 분리막을 사용하여

에너지 소비를 줄이고 효율을 크게 향상시킬 필요가 있다.

### III. 연구개발 내용 및 범위

본 연구는 실크종이 또는 뽕나무/실크 종이를 제조하는 연구, 고정화 효소를 이용한 실크 세리신의 가수분해에 관한 연구, 그리고 가수분해된 실크 세리신을 농축하는 연구로 구성되어 있다. 먼저 실크 종이를 제조하기 위하여 장섬유인 실크 섬유를 단섬유화하는 기술 공정을 개발하였으며, 단섬유화된 실크 섬유를 여러 가지 호제를 이용하여 종이로 가공하는 기술을 개발하였다. 또한 종이의 강도를 증진시키기 위하여 또 다른 양잠 부산물인 뽕나무 가지 섬유를 실크 단섬유와 혼합하여 뽕나무/실크 종이를 개발하였다.

한편 실크 단섬유화 과정에서 발생하는 실크 세리신 부산물은 고정화 효소를 이용하여 저분자화하였으며, 저분자화된 실크 세리신이 어떠한 생리적 활성을 갖는지 검정하였다. 또한 세리신의 저분자화에 필요한 단백질 분해효소의 안정성을 높이기 위하여 분리막을 이용하였다. 분리막 표면에 효소를 고정화하고 반응과 분리가 동시에 이루어지도록 설계하였으며 공정의 경제성을 높이기 위하여 추출된 세리신 단백질을 분리막 공정을 이용하여 효율적으로 농축하고 또한 세리신이 분리막을 통과할 때 올리고펩타이드로 분해하여 막의 오염을 줄이고 동시에 올리고펩타이드를 생산하여 후공정에 올리고펩타이드를 농축할 수 있는 고유량 나노여과막을 개발하였다.

### IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

실크 종이의 제조에 있어 중요한 것은 장섬유인 실크 섬유를 효율적으로 단섬유화하는 것이다. 여기에는 물리적 방법과 화학적 방법이 가능한데 본 연구과제에서는 화학적인 방법을 통하여 단섬유화가 가능하였다. 단섬유화된 실크 섬유는 PEO와 녹말을 혼합한 호제를 이용하여 실크 종이로 제조되었다. 한편 뽕나무 섬유를 첨가한 뽕나무/실크 종이의 경우 뽕나무 섬유의 표백 및 피브릴화가 중요한데 이는 과산화수소와 규산나트륨을 혼용하여 가능하였다. 뽕나무/실크 종이는 실크 종이에 비하여 물성이 크게 향상되었으며, 포르말린의 제거효과도 있었다. 따라서 뽕나무/실크 종이는 새집증후군을 억제할 수 있는 벽지로 활용이 가능할

것으로 기대된다.

실크 세리신의 저분화에 있어서는 고정화 효소를 사용하므로 효소의 지지체의 선별이 중요한데 기질이 고분자인 관계로 비다공성 섬유상 지지체를 이용하였다. 여러 상용 섬유를 비교한 결과 실크 섬유가 우수한 효소활성 및 안정성을 나타내었다. 또한 실크 섬유에 친수성 고분자(세리신)를 부착하여 개질한 결과 효소의 안정성을 더욱 증대시킬 수 있었다. 또한 1종의 효소를 이용하는 경우보다 2종의 효소를 이용한 경우 보다 효율적으로 저분자 세리신을 제조할 수 있었다. 제조된 저분자 세리신은 슈퍼옥사이드 제거능이 있어 화장품 등에 응용이 가능할 것으로 생각된다.

한편, 실제 정련 공정에서 생산되는 세리신은 1% 미만이며 재활용을 위한 효율을 높이기 위해서는 세리신 용액을 농축해야 할 필요가 있다. 본 농축시스템을 이용하여 농축배율을 2.5배까지 높일 수 있었으며 단백질 변성문제도 해결이 가능하였다. 또한 농축된 단백질의 활용도를 높이기 위하여 단백질 분해효소를 이용하여 세리신을 가수분해시키고 여러 공정 중에서 폴리아미드 분리막 표면에 효소를 고정화하여 분리와 분해가 동시에 이루어지는 분리막 반응기를 활용하였다. 이를 위하여 폴리아미드 층을 표면에 갖는 복합막을 제조해야 하고 표면을 가수분해하여 단백질 분해효소를 화학적으로 막표면에 고정화하였으며 이러한 분리막 반응기를 세리신 단백질이 통과하면서 단백질 분해효소에 의해서 가수분해된 올리고펩타이드는 분리막을 통하여 투과되고 그렇지 못한 단백질은 투과되지 못하고 계속해서 반응이 이루어지게 된다. 투과된 올리고펩타이드도 단백질과 마찬가지로 계속해서 농축과정이 이루어져야 하며 분자량이 약 3000 정도 되는 올리고펩타이드 용액의 농축을 위하여 기존의 상업화된 분리막으로는 투과유량이 너무 작아서 생산효율이 크게 떨어지므로 투과유량이 약 10배 이상 되는 복합막의 제조가 가능하였다. 본 연구에서 개발된 결과를 이용하여 본 연구의 내용에 국한하지 않고 효소반응기용 분리막, 증공사형 분리막 및 고투과유량의 나노복합막 등 다양한 물을 함유된 용액의 분리에 다양하게 사용이 가능하다.

# SUMMARY

## I. Title

Preparation of Silk Paper from Sericultural By-products and Development of Functional Materials from Discarded Silk Sericin

## II. Objectives and Needs

The objective of this research is to utilize the by-products from sericulture such as cut-cocoon and mulberry branches into silk papers. Another objective is to utilize silk sericin, which is another by-products during the preparation of silk paper, into novel functional materials after enzymatic hydrolysis. Recently, Korean sericulture farmers produce *Dongchunghacho*, which produces cut-cocoon that could not be used further as apparels. And also, during the rearing of silkworm, a lot of mulberry branches are abandoned. These by-products are not reused properly or mostly abandoned. Therefore, if these by-products could be reused as another more valuable sources, the incomes of farmers could be increased. On the other hand, during the process that will be developed by this research, silk sericin is produced as by-products. This protein is mostly abandoned even if it has high potential as novel source of protein. There is some attempts to reuse sericin as novel functional materials. However, the concentration of silk sericin solution is less than 1%, which further concentration is needed to have economical value. Conventional concentration processes utilize evaporation methods, which is time and energy consuming methods. In this research, the extracted sericin protein will effectively concentrated by the membrane process.

### **III. Contents and Area of the Research**

This research contains 1) preparation of silk paper or mulberry/silk paper, 2) enzymatic hydrolysis of silk sericin using immobilized enzyme, and 3) concentration of silk sericin using membrane system. First, to prepare silk paper, we have developed new method of fibrillation of silk fibroin. Mulberry fibers are blended with silk fibroin fibrils in order to improve the properties of silk paper. Silk sericin that produced during the preparation of silk fiber is further hydrolyzed with immobilized enzyme. The physiological activity of low molecular weight sericin will be examined.

In this work a membrane process for concentration of sericin protein extracted from a cocoon was developed. And to produce functional oligopeptides from concentrated sericin enzymes were immobilized by covalent bond on the surface of a polyamide membrane. Both reaction and separation was occurred on the membrane surface. Because of the effective reactor membrane fouling was decreased and only oligopeptides were transported through the membrane. Moreover, to concentrate the oligopeptides effectively high flux nanofiltration membrane was prepared. And an anti-fouling nanofiltration membrane was developed.

### **IV. Results and plans for the application**

It is important to achieve successful fibrillation of silk fibroin in order to produced silk paper uniformly. Chemical processes was adopted to fibrillate the silk fibroin. The silk fibroin fibrils are prepared into silk paper using a mixture of PEO and starch as glue. In the preparation of mulberry/silk paper, the bleaching of mulberry fiber was critical. This could be achieved by combination of sodium silicate and hydrogen peroxide. The mechanical properties of paper could be improved by introducing the mulberry fibers. The mulberry/silk paper could adsorb formaldehyde in the air. Therefore, the developed mulberry/silk paper could be applied as wall papers, which could

reduce the sick house syndrome.

The silk sericin could be successfully hydrolyzed by immobilized enzyme. Fibers are chosen as a support of enzyme, and among the fibers, the silk could retain more the activity and stability of enzyme. The silk fiber was further modified by introducing sericin as a spacer arm. Several reactors are developed to hydrolyze silk sericin more efficiently. By combining two different enzymes, the efficiency of hydrolysis could be increased. The low molecular weight sericin had scavenging effect on superoxide radicals.

On the other hand, instead of the distillation method, membrane method which is economical than the distillation method can enhance the effectiveness and solve the protein denaturation problem. To increase the application of the concentrated protein a membrane reactor was developed. By immobilizing enzymes on the membrane surface both reaction and separation was occurred. A polyamide composite membrane should be prepared and enzyme should be immobilized on the hydrolyzed membrane surface. When the sericin protein contacts the reactor, a hydrolyzed protein can transport through the membrane. A non-hydrolyzed protein can be retained in the reactor. The transported oligopeptides which has a molecular weight of 3000Da should be concentrated. Commercialized membranes have too low flux. There is a need to develop a composite membrane which has a 10 times higher flux than the commercialized membranes. By using results in this work, it is possible to use a enzymatic membrane reactor, hollow fiber membranes and high flux nanofiltration composite membranes for the separation of variable materials in water solution.



# CONTENTS

Chapter 1. Introduction .....	10
1. Objectives of the Research .....	10
2. Needs of the Research .....	10
3. Contents of the Research .....	14
Chapter 2. Present Status of the Related Technologies .....	17
Chapter 3. Contents and Results of the Research .....	19
1. Preparation and Characterization of Silk Paper .....	19
2. Preparation and Characterization of Mulberry/Silk Paper .....	37
3. Development of Trial Product of Silk an Mulberry/Silk Paper .....	48
4. Enzymatic Hydrolysis of Silk Sericin .....	56
5. Concentration of Silk Sericin using Membrane System .....	78
6. Application of Low Molecular Weight Silk Sericin .....	99
Chapter 4. Completion of the Objectives and Contributions to the Related Fields .....	106
Chapter 5. Application Plan of the Results .....	109
Chapter 6. New Technologies from Abroad .....	110
Chapter 7. References .....	112

# 목 차

제 1 장	연구개발과제의 개요 .....	10
1절.	연구개발의 목적 .....	10
2절.	연구개발의 필요성 .....	10
3절.	연구개발의 범위 .....	14
제 2 장	국내외 기술개발 현황 .....	17
제 3 장	연구개발수행 내용 및 결과 .....	19
1절.	실크 종이의 제조 및 물성평가 .....	19
2절.	뽕나무/실크 종이의 제조 및 물성평가 .....	37
3절.	실크 종이 또는 뽕나무/실크 종이의 시작용 개발 .....	48
4절.	실크 종이 제조공정에서 발생하는 실크 세리신의 저분자화 .....	56
5절.	분리막을 이용한 실크 세리신의 농축공정 개발 .....	78
6절.	회수된 실크 세리신의 이용방안 .....	99
제 4 장	목표달성도 및 관련분야에의 기여도 .....	106
제 5 장	연구개발결과의 활용계획 .....	109
제 6 장	연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보 .....	110
제 7 장	참고문헌 .....	112

# 제 1 장 연구개발과제의 개요

## 1절. 연구개발의 목적

본 과제에서는 양잠업과 실크 제조업에서 폐기되는 절각견, 폐실크 및 뽕나무 폐목을 이용하여 물성이나 기능성이 우수한 실크종이를 개발하고자 한다. 그리고 실크종이 제조 과정에서 나오는 다량의 세리신 단백질을 수거하여 장기간의 저장에도 안정성이 보장되는 우수한 산업적 자원으로 활용하고자 한다.

## 2절. 연구개발의 필요성

### 1. 기술적 측면

실크종이는 기존의 전통 한지나 서예 또는 수묵화 등에 이용되는 화선지에 버금가거나 그 이상의 물성을 보유하면서도 가격 면에서도 훨씬 경제성이 인정되는 제품으로 전통 한지를 제조하는 기술을 도입하게 된다. 실크는 물리적 성질이 매우 뛰어난 장섬유로서 종이 제조에 필요한 적당한 길이로의 절단이 필요하다. 그리고 이렇게 제조된 단섬유 실크는 필요에 따라 물리화학적 방법을 동원하여 피브릴화 공정을 거치게 되는데 이 기술은 실크종이의 균일성 및 물성에 매우 중요한 영향을 끼치게 된다. 또한 뽕나무 가지의 섬유화가 가능하다면 실크 단섬유와 혼합하여 새로운 종류의 실크종이도 기대할 수 있다. 특히 실크는 염색성이 우수한 섬유로서 원하는 색으로 염색을 한 후 종이를 제조한다면 아름답고 화려한 색의 실크종이 제품을 생산이 가능하다.

실크종이 제조과정 중에서 배출되는 세리신은 천연 단백질로서 현재 의료, 보건, 기능성 식품, 화장품 및 신소재 등으로 그 활용범위가 넓어지고 있으며 화장품과 기능성 식품으로의 활용은 이미 실용화되어 제품으로 판매되고 있다. 그러나 이러한 유용한 가치를 지닌 산업적 자원임에도 불구하고 세리신은 고분자이면서 변성이 쉬운 단백질이기 때문에 현재까지 이를 안정된 자원으로 사용하기 위한 많은 시행착오를 겪고 있다. 따라서 장기간 저장의 안정성을 보장하기 위해서 여러 가지 방법이 있을 수 있겠으나 효소를 이용한 저분자화 공정을 도입하고자

한다. 세리신의 저분자화가 이루어지면 액상 보관시 변성을 최소화 할 수 있으며 건조시 물에 대한 용해도가 크게 증가하기 때문에 건조하여 장기간 저장도 가능해진다. 일반적으로 효소를 이용하게 되면, 효소의 반응특이성에 의하여 특정 부위에서만 절단이 일어난다는 점과 환경 친화적인 공정이라는 장점이 있다. 현재 까지 효소 분해법은 실크 단백질 수용액에 효소를 직접 첨가하는 방식을 이용하고 있으나 이 경우 얻어진 생성물에는 여전히 효소가 잔류하고 있어 순수한 세리신이라고 보기 힘들며 반응 때마다 효소를 첨가해야 함으로 고가의 효소의 사용에는 경제적 부담이 크다. 이러한 관행방법을 개선하고자 본 연구에서는 효소를 고정화하는 기술을 도입하였다. 효소를 지지체에 고정하게 되면 효소의 안정성이 증대되고 회수가 용이함으로써 재사용이 가능한 장점을 지니고 있다. 효소의 고정화 기술은 이미 상당한 기술의 진보가 있었지만, 고분자 기질에 대한 연구는 상대적으로 적은 편이다. 현재 효소의 고정화 지지체로 많이 이용되는 것은 다공성 지지체이다. 이러한 다공성 지지체는 그 표면적이 많아 효소를 다량으로 고정할 수 있지만, 고분자 기질의 경우 다공성 지지체 내부로의 확산이 불가능하거나 확산속도가 낮아 효율적이지 못하다. 따라서 고분자 기질에 적합한 효소 고정화 지지체의 개발과 효율적인 공정의 개발이 요구된다.

이렇게 저분자화된 세리신은 용액 자체로도 사용이 가능할 뿐만 아니라 건조를 하여 분말 상태로도 이용할 수 있는데 모든 경우 경제성과 안전성을 고려하여 세리신 용액의 농축 공정은 필수적이다. 세리신 용액을 농축하게 되면 그만큼 고정화에 필요한 에너지를 낮출 수가 있다. 용매의 증발을 위하여 열에너지를 가할 경우 세리신의 변성으로 인한 불용화를 야기하며 응용범위를 감소시키게 된다. 그러나 분리막을 이용하여 농축을 할 경우에는 이와 같은 문제점을 해결할 수 있고 소비되는 에너지양도 적어 매우 유용하게 사용이 될 수 있다. 세리신과 같은 단백질은 분리막의 표면을 쉽게 오염을 시키므로 분리막의 선정이 매우 중요하며 또한 분리막 모듈도 농축의 효율화를 위해서 고려를 해야 한다. 분리막의 선정시 소재뿐만 아니라 기공크기도 매우 중요하므로 세리신 농축에 적합한 분리막을 개발할 필요가 있다.

효율적인 세리신의 농축도 중요하지만 단백질의 변성을 막는 것도 매우 중요하다. 세리신 용액의 농축을 위해서 운전압력이 증가할 경우 단백질의 변성을 초래할 수 있으므로 가능한 한 운전압력을 낮추어야 한다. 그러나 운전압력을 낮출 경우 농축효율이 떨어지므로 고유량의 분리막의 개발이 선행이 되어야 한다. 또

한 세리신 용액의 유로를 넓게 해야만 막오염을 줄일 수 있으므로 증공사형태나 평막형태로 운전해야 하며 공기방울에 의한 막표면에서의 난류를 형성시키면서 침지형으로 분리막을 용액 속에 함침시켜서 운전하고 투과수를 매우 약한 진공으로 뽑아냄으로서 세리신 용액 자체에 부하를 주지 않음으로서 단백질의 변성을 막을 수 있다. 즉 기존의 운전형태와는 다른 방법을 선택해야 한다.

효소에 의해 가수분해한 세리신 중의 저분자 펩티드의 분리 및 효율을 극대화하기 위하여 고유량의 나노복합막의 개발이 선행되어야 하며 또한 아미노산에 의한 분리막의 표면 오염이 일어날 수 있으므로 막오염에 대한 저항성이 있는 나노복합막을 이용하여야 한다. 이와 같은 나노복합막을 이용할 경우 막오염으로 인한 분리막의 교체주기를 연장함으로써 운전비용을 절감할 수 있고 고유량이므로 운전압력을 줄여줌으로서 에너지가 적게 드는 장점이 있다.

## 2. 경제·산업적 측면

최근 각광을 받고 있는 누에 동충하초 생산 과정에서 의류용으로 사용될 수 없는 절각견이 배출되고 국내외 실크 섬유, 또는 직물 관련 공장에서 연간 수백 톤의 부잠사가 배출되는데 이 부잠사는 의류용 섬유 또는 직물에 사용할 수 없기 때문에 전량 폐기되거나 절개 고치와 같이 이불솜 또는 부직포 등에 이용되고 있다. 그러나 이러한 상품들은 소비자들에게 크게 호응을 얻지 못하고 있으며 실크의 원가나 인건비 등이 비싸기 때문에 양잠농가의 소득원으로서 고부가가치성 새로운 제품 개발이 절실한 실정이다. 또한 뽕나무는 수년간 뽕이나 오디 열매를 생산하고 난 후 그 수명을 다했을 때 폐기되어야 하며 그 양이 해마다 수십 톤에 달한다. 이렇게 버려지는 뽕나무 가지를 재활용하는 기술이 확립된다면 자원을 재활용한다는 환경적 측면과 농가의 고수익 보장이라는 경제적 측면을 동시에 충족시켜 줄 수 있으리라 기대된다.

따라서 본 과제에서는 의류용 섬유로 사용될 수 없는 폐실크와 더 이상 뽕잎을 생산할 수 없는 뽕나무 폐목을 이용하여 새로운 고부가가치 상품을 개발함으로써 농가의 경제적 안정에 기여하고 이러한 기술 및 제품이 산업적으로 중요한 기반을 형성하여 소비자들이 선호하는 안정적인 소득원으로 자리매김할 수 있으리라 생각된다. 더불어 양잠과 관련된 국내 산업이 점차 국제적으로 인정받고 있는 현 시점에서 고급기술을 포함하는 새로운 제품의 개발은 국제적 인지도를 공고히 할 수 있는 좋은 기회라 할 수 있다.

그 뿐만 아니라 실크종이 제조공정에서 배출되는 세리신의 이용을 위하여 효소를 이용한 가수분해 공정을 계획하고 있는데 본 과제에서 이루고자 하는 고정화 효소를 이용한 가공공정은 반응조건이 온화하여 에너지 소모가 적다. 또한 효소를 고정화하여 재사용함으로써 경제적 측면에서도 장점을 갖고 있다. 현재 효소를 이용하여 유기물을 합성하는 기술이 이미 선진국에서는 개발되고 있다. 이 경우 가장 핵심적인 기술이 효소의 고정화 기술이다. 특히 고분자 기질에 적합한 효소의 고정화 기술의 개발은 장차 유기고분자를 합성하는 화공분야, 유가공 분야 등에 폭넓게 응용될 것으로 기대된다. 따라서 이와 같은 기술을 확보하는 함으로써 다가오는 환경산업에 대비하는 것이 요구된다.

고정화 효소에 의해 가수분해된 세리신은 첨단공법인 분리막법을 이용하여 농축하게 되면 세리신의 가공 공정 중 경제적으로 크게 절약할 수 있는데 분리막을 통한 세리신 농축 기술은 국내의 분리막 시장을 한층 더 키울 수 있고 또한 국외에서는 시도되지 못했던 새로운 방법을 개발함으로써 세리신 이외의 유용한 단백질의 농축에도 효율적으로 적용이 될 수 있다. 단백질의 농축과 더불어 효소에 의해 가수분해된 저분자 펩티드의 분리 및 농축을 연속적으로 수행함으로써 공간을 많이 차지하지 않는 컴팩트한 시스템을 구축하여 단백질의 농축시스템 및 올리고머 수준의 저분자 펩티드의 분리 및 농축시스템의 상업화가 가능해지므로 세리신 생산품뿐만 아니라 고유 시스템의 생산도 가능해진다. 사회적으로 BT 및 NT 그리고 융합형 기술이 큰 이슈가 되고 있으며 바이오 기술과 나노막을 이용한 나노수준에서의 물질분리가 병행됨으로서 융합형 기술로서 각광을 받게 될 것이다.

### 3. 사회·문화적 측면

실크종이는 그 자체뿐만 아니라 고유 문화 유산의 보존 차원에서도 의미가 매우 크다. 실크종이와 비교할 수 있는 전통 한지는 우리의 고유문화 유산으로서 습·건조 상태에서도 물성이 매우 우수하며 그 자태가 매우 아름다워 최근에는 수공예를 통하여 장식용 고급소재로서도 각광을 받고 있다. 전통 한지 이외에 서예나 수목화의 바탕이 되는 화선지의 대용으로 사용할 수 있기 때문에 본 과제가 충실하게 수행된다면 사회·문화적 측면에서도 매우 큰 반향을 일으킬 수 있으리라 생각된다.

세리신은 고정화 효소의 가수분해에 의해 기능성 식품 및 화장품 재료로 폭넓

게 이용될 수 있다. 현재 우리나라는 고령화 사회로 진입하고 있다. 따라서 건강에 대한 관심이 날로 증대되고 있으며, 이에 따라 기능성 식품에 대한 관심도 증대되고 있다. 효소를 이용한 공정은 그 반응조건이 온화하여 에너지가 적게 소비되고, 친환경적인 공정이다. 따라서 에너지 자원의 고갈과 환경오염 등의 문제점을 해결하기 위해서는 효소를 이용한 물질의 화학적 개질, 합성, 분해 등의 기술의 개발이 시급한 실정이다.

또한 세리신 용액의 농축 공정에서 사용되는 분리막법은 환경오염 문제를 해결함과 더불어 물의 재사용이 가능해 질 것이다. 앞으로 업체들은 환경규제의 강화로 인해서 방류수의 기준을 맞추기 위하여 많은 어려움이 따를 것이며 이의 해결 없이는 제품의 생산도 불가능하다. 강화된 폐수처리시설을 갖추어야 함으로 상당한 운전비용과 유지비용이 투입되어야 한다. 이러한 측면에서 분리막을 이용한 농축 및 분리방법은 부대 적인 폐수처리가 불필요하게 된다. 즉, 분리막을 이용하여 제품을 생산함으로써 환경 친화적인 기업으로 성장함으로써 기업 및 제품의 이미지가 높아지게 된다.

### 3절. 연구개발의 범위

본 연구의 목적을 달성하기 위하여 본 연구는 다음의 연구범위를 설정하였다.

#### 1. 실크 종이의 제조 및 물성평가

실크 종이를 제조하기 위해서는 절각견으로부터 먼저 실크 세리신을 제거해야 한다. 절각견은 이미 의류소재의 원료로서 그 가치를 상실하였으므로 기존의 실의 품질을 중요시하는 비누정련법을 사용할 필요가 없다. 따라서 고온고압법에 의한 정련을 실시한다. 종이를 제조하기 위해서는 1mm 정도의 짧은 섬유로 단섬유화가 요구되므로 절단 등의 물리적 방법과 알칼리 약제를 이용한 화학적 방법을 이용한다. 또한 실크 섬유간의 접합을 위해 호제를 이용해야 하는데 이에 필요한 호제를 개발한다. 제조된 실크 종이의 물성을 평가하여 종이로서의 이용가능성을 평가한다.

## 2. 뽕나무/실크 종이의 제조 및 물성평가

뽕나무 섬유와 실크를 적절히 혼합하여 실크 종이의 물성을 개량하기 위한 목적으로 뽕나무/실크 종이를 제조한다. 뽕나무 가지의 섬유를 종이에 이용하기 위한 적합한 상태로 가공하기 위하여 표백 등의 전처리 조건을 확립한다. 또한 뽕나무/실크 종이의 물성을 평가하여 이미 제조된 실크 종이와 비교한다.

## 3. 실크 종이 또는 뽕나무/실크 종이의 시작품 개발

실크 또는 뽕나무/실크 종이의 제조기술을 보다 체계화하고 시작품 제작에 필요한 pilot 설비를 제작한다. 또한 이들 종이의 경제성을 평가하여 상품화 가능성을 검토한다.

## 4. 제조공정에서 발생하는 실크 세리신의 저분자화

### 가. 지지체의 선별

종이의 제조공정 중에 발생하는 실크 세리신을 회수하고 실크 세리신의 저장 안정성을 증대시키기 위하여 저분자화한다. 이 때 실크 세리신을 저분자화하기 위한 방법으로 기존의 화학적 가수분해법 대신 효소 가수분해법을 이용한다. 효소는 불용성 지지체에 고정하여 이용하여 경제성을 증대시킨다. 이를 위하여 효소를 고정한 지지체를 선별하며, 선별된 지지체는 다시 추가적인 개질을 통하여 효소의 안정성을 보다 증대시킨다.

### 나. 회분식 또는 연속식 고정화 효소 반응기의 제작

고정화 효소 반응기를 회분식 또는 연속식 반응기를 제작하여 실크 세리신의 가수분해 효율성을 측정한다. 또한 2종의 효소를 복합적으로 이용함으로써 가수분해 효율을 더욱 증진시킨다. 최종적으로 적합한 반응기를 선택하여 pilot 설비를 제작하고 시작품을 제조한다.

### 다. 효소 가수분해에 의한 저분자 펩티드의 분리 및 농축을 위한 반응기 개발

분리막 기공 내로의 효소의 고정화에 의한 세리신의 효율적인 가수분해 시스템을 개발하며 나노복합막에 의한 저분자 세리신의 분리 및 농축시스템을 개발한다. 이를 위하여 우선 효소 분리를 위한 분리막을 개발한다. 분리막은 효소에 대한 저항성이 우수하면서 막오염을 줄이고 고유량을 갖도록 한다. 최종적으로 저



분자 펩티드 분리 및 농축시스템 개발을 위하여 생산성을 향상시킨 고유량의 나노복합막 개발하고 막오염 저항성을 향상시킨다.

#### 5. 실크 세리신의 농축시스템 개발

실크 세리신은 단백질로 일반 분리막을 이용할 경우 막오염 현상이 극심할 것으로 예상된다. 따라서 실크 세리신의 분리막 표면에서의 오염을 줄이면서 변성을 최소화할 수 있도록 극저압에서 고유량을 갖는 농축시스템의 개발한다.

#### 6. 회수된 실크 세리신의 이용방안

회수된 실크 세리신의 이용을 위하여 우선적으로 실크 세리신의 항산화능을 평가한다.

## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

실크 종이의 제조는 국내외적으로 그 사례를 찾아보기 힘들다. 1999년 농촌진흥청 과제에서 실크 부직포 제조법에 관한 연구를 수행하면서 실크종이의 제조에 대한 기초 실험이 수행되었으나 이는 실크를 첨가하는 단순한 기술로서 실크의 단섬유화 및 피브릴화법에 대해서 체계화하지 못하였다. 한지의 강도 개선책으로서 재생 셀룰로오스 섬유 (제품명 : Tencel)를 첨가하는 방법이 제시되기도 하였으나 재생 셀룰로오스 섬유는 매우 복잡한 공정을 거치며 가격 또한 매우 비싸다. 일본에서는 실크 부직포를 이용한 명함 등을 제작하여 이용하고 있으나 이는 종이라고 할 수 없다. 이들이 이용하는 것은 평면건으로 누에가 실크를 평면에 토사하도록 유도한 것에 지나지 않으며, 이러한 평면건의 제조에는 많은 노력과 노동력이 요구된다.

실크 세리신은 현재 여러 외국회사에서 수용액 상태로 판매하고 있다. 그러나 이들 세리신은 화학적으로 가수분해한 상태이며 따라서 중화, 탈염 등의 복잡한 과정을 거치게 된다. 한편 세리신은 쉽게 졸상태에서 젤상태로 전이가 일어나며 이는 소비자에게 변성으로 인식된다. 이러한 젤상태로의 전이를 억제하기 위해서 기존에는 용액의 농도를 1% 이하로 하였으나 이는 물류비용을 상승을 가져온다. 따라서 이러한 문제점을 해결하기 위하여 2000년에 실크 세리신 수용액의 겔화 방지와 수용성 분말 제조에 관한 연구에서는 각종 첨가제를 첨가하여 실크 세리신 수용액의 겔화를 지연하고 분말 제조시 용해도 증가하는 것을 보고하였다. 또한 세리신의 분자량을 저하시켜 겔화 지연시키고 동결건도 후 용해도를 증가시켰다. 고정화 효소를 이용한 세리신의 저분자화도 수행하였으나 다양한 지지체에 의한 효과나 최적조건에 대한 연구는 미비하였다.

세리신의 가수분해 산물인 올리고펩타이드를 농축하기 위한 나노여과 분리막의 경우 80년대 중반부터 세계적으로 5~6개 업체에서 상용화하여 이미 시장에 출시가 되고 있는 상태이다. 최근에는 분리막 제조사들이 고유량, 고기능성을 부여한 나노여과 분리막을 개발하여 출시하고 있으며, 따라서 기본적인 제품의 제조 기술에 있어서는 이미 안정화 되었고 현재는 제품 다양화를 통한 시장의 확장 단계에 있다고 볼 수 있다. 그 중에서도 고유량의 나노 여과막 개발이 최근 들어 가장 두드러진 제품개발 방향이다. 80년대 후반 Filmtec을 인수합병한 DOW

chemical사는 가장 다양한 그레이드의 나노여과 분리막을 생산하고 있는 업체 중의 하나인데, DOW에서 98년에 내놓은 NF200-400모듈의 경우 70psi에서 2000ppm MgSO<sub>4</sub> 용액을 원수로 분리막의 성능을 평가한 결과 8,000GPD의 생산 유량을 나타냈으나, 최근 출시한 NF270의 경우 같은 평가 조건에서 NF200에 비해 약 70%정도 향상된 14,700GPD의 유량을 보이고 있으며 시장의 주력 제품으로 자리 잡아 가고 있다.

내오염성 분리막의 경우, NF에서는 사례가 아직 없다. 하지만, 내오염성 기술이 이미 적용되고 있는 역삼투 분리막의 경우를 살펴보면, 유량 감소율이 일반 제품 대비 50%정도 밖에 되지 않아 막세척(CIP)주기가 늘어나고 Chemical의 사용, 전력비 등을 절약할 수 있다는 것이 확인되고 있으며 머지않아 NF에도 이러한 기술이 적용되어 실용화 될 것으로 보이므로 NF에서도 최적화된 내오염성 제어방법이 상용화 될 것으로 예상된다.

## 제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

### 1절. 실크 종이의 제조 및 물성평가

#### 1. 실크 종이의 제조

누에 동충하초를 생산하기 위해서는 5령 누에에 동충하초 균주를 접종시키고 누에가 고치를 지을 때까지 기다렸다가 고치를 절단한 후 동충하초 균에 감염된 누에 번데기를 회수해야 한다. 이 때 고치를 절단하므로 이 고치는 더 이상 의류 소재의 원료로 이용되지 못한다. 이를 절각견이라고 하는데 현재까지는 실크 분말의 원료로 이용되어 왔다. 실크 분말은 절각견을 강산으로 분해해서 얻어지는데 몇 가지 효능에도 불구하고 비싼 가격으로 인하여 그 용도가 제한적이다. 본 연구에서는 이러한 절각견을 이용하여 보다 유용하고 실생활과 밀접한 소재로 가공하는 것을 목표로 실크 종이를 제작하였다.

실크는 피브로인과 세리신이라는 두 가지 단백질로 이루어져 있는데, 피브로인은 우리가 흔히 의류로 이용하는 섬유상 단백질이며, 세리신은 두 가닥의 피브로인을 접합시켜 고치의 형태를 유지하는 아교질 단백질이다. 본 연구에서 종이의 원료로 이용하려는 것을 피브로인이므로 우선 세리신을 제거하여야 한다. 세리신이 제거된 피브로인은 여전히 긴 섬유의 형태를 띠고 있는데, 단섬유로 만들어지는 종이의 원료로 직접 이용할 수 없다. 따라서 일정한 길이로 절단하는 것이 요구된다.

#### 가. 절각견의 정련

##### 1) 재료 및 방법

절각견은 (주)흥진에서 제공받아 사용하였다. 절각견은 견절단기를 이용하여 일정 크기로 잘라 사용하였다. 절각견의 정련은 순수한 물에 1/25배의 절각견을 넣은 후 120℃에서 시간별로 처리하였다. 제거된 세리신의 양은 연감율로 표시하였으며 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{연감율}(\%) = \frac{\text{초기 절각견의 무게} - \text{처리 후 절각견의 무게}}{\text{초기 절각견의 무게}}$$

## 2) 결과 및 고찰

고치실에서 세리신을 제거하고 피브로인만 남기는 공정을 정련이라고 한다. 고치실의 정련 방법에는 비누 정련과 알칼리 정련, 그리고 고압 정련으로 구분된다. 전통적으로는 비누 정련과 알칼리 정련이 많이 이용되는데 이는 정련 후 피브로인의 물성이 가장 잘 유지되기 때문이다. 그러나 비누 정련 및 알칼리 정련은 정련 효과는 우수하지만 순수한 세리신 용액을 얻기 어렵다. 비누와 알칼리 등의 약제가 사용되므로 세리신 용액을 얻기 위해서는 사용된 비누 및 알칼리를 제거해야 한다. 본 연구과제는 실크 종이의 제조공정에서 발생하는 실크 세리신을 회수하여 이용하는 것을 포함하므로 이러한 방법을 적절하지 못하다.

따라서 세리신을 효과적으로 제거하면서도 순수한 세리신 용액을 얻어야 하는데 이를 위해서는 물만을 이용한 고온고압 정련이 적합하다. 고온고압 정련법의 단점은 남은 피브로인 섬유에 축감이 떨어진다는 것인데 이는 어디까지나 의류소재로 이용하는 것에 해당할 뿐, 본 연구에서 이용하려는 종이에겐 해당 없으므로 충분히 이용가능하다. 그림 1은 120℃에서 시간에 따른 연감율(정련 후 고치의 무게감소율)이다. 30분 처리 시 거의 25%의 연감율을 나타내었으며 45분부터 평행에 도달하며 최종 60분 처리 시 약 27%의 연감율을 나타내었다. 이는 일반적인 고치실 내의 세리신 함량인 25%보다는 약간 높은 수치이지만, 이 정도의 과정련은 종이를 제작하는데 아무 이상이 없었으며, 오히려 화학적 단섬유화를 용이하게 하였다. 즉 피브로인 섬유에 약간의 손상을 줌으로서 피브로인 섬유의 절단을 용이하게 한 것이다. 따라서 이후 모든 실험에서는 120℃에서 1시간 정련한 실크를 이용하였다.

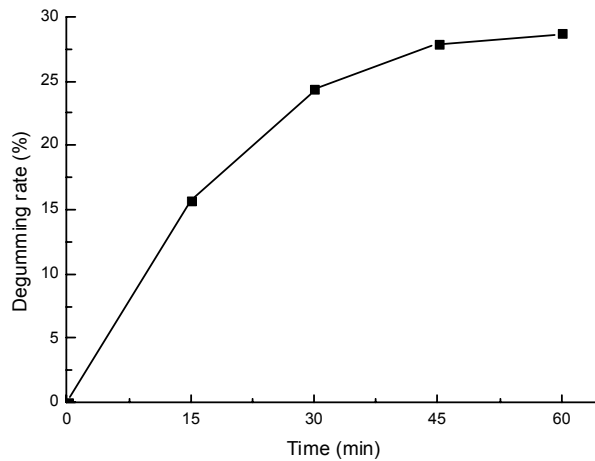


그림 1. 120°C에서 처리시간에 따른 연감율의 변화

## 나. 실크 피브로인의 단섬유화 및 피브릴화

### 1) 재료 및 방법

정련된 절각견을 물리적 방법과 화학적 방법에 의하여 단섬유화 및 피브릴화 하였다. 물리적 방법으로는 견절단기 및 가위를 이용하여 일정한 길이로 절단하였다. 화학적 방법으로는 수산화나트륨과 탄산나트륨을 일정한 비율로 혼합한 용액을 이용하였다. 수차례 물로 수세한 후 체에 걸러 용해되지 않은 실크 피브릴 섬유를 얻었다. 얻어진 실크 피브릴 섬유는 광학현미경을 이용하여 관찰하였다.

### 2) 결과 및 고찰

#### 가) 물리적 방법에 의한 단섬유화

정련된 절각견을 우선 견절단기를 이용하여 절단하려고 하였으나 절단이 완전하게 이루어지지 않았다. 이는 피브로인이 강도가 우수하면서도 탄력이 좋기 때문인 것으로 판단된다. 또한 가위를 이용해서 소량 절단하였으나 수중에서 고르게 분산되지 않고 여러 곳에서 뭉쳐있는 상태로 존재하였으며 어떠한 방법으로도 분산시킬 수 없었다. 균일한 성질을 갖는 종이를 제작하기 위해서는 단섬유인 피브릴 섬유가 고르게 분산되어 있어야 하는데, 이와 같이 뭉침현상이 발생하면 고

른 성질의 종이를 얻을 수 없다. 그림 2는 물리적으로 절단한 피브로인 단섬유를 이용하여 종이를 제작하고 디지털 카메라로 찍은 것이다. 그림에서 보듯이 섬유가 곳곳에 뭉쳐있어 종이 표면이 고르지 못하다. 따라서 물리적 방법에 의한 피브로인의 단섬유화 및 피브릴화는 어려울 것으로 판단된다.



그림 2. 섬유의 뭉침 현상이 발생한 실크종이의 표면

#### 나) 화학적 방법에 의한 단섬유화 및 피브릴화

물리적인 방법에서 나타났듯이 피브로인 섬유를 단섬유화하고 이를 더욱 세분하여 피브릴화 하는 것이 매우 중요함을 알 수 있다. 여기서 단섬유화는 섬유의 길이가 짧아지는 것을 의미하며, 피브릴화는 섬유의 굵기도 감소하는 것을 의미한다. 실크를 이용하여 종이를 제조하는데 있어 섬유의 길이를 줄이는 것도 중요하지만 표면이 고른 종이를 제조하기 위해서는 섬유의 굵기도 매우 중요하게 작용한다. 따라서 이 두 가지를 모두 만족시켜야 좋은 종이를 제조할 수 있었다.

본 연구에서는 피브로인의 단섬유화와 피브릴화를 수산화나트륨과 탄산나트륨을 혼합한 용액으로 성공적으로 수행할 수 있었다. 수산화나트륨을 강알칼리로 단백질을 가수분해한다. 이러한 수산화나트륨의 효과를 저해하기 위하여 탄산나트륨을 혼합하여 가수분해 속도를 늦추면서 동시에 가수분해가 골고루 이루어지도록 하였다. 가수분해의 정도는 시간을 제어하여 조절하였다. 표 1은 종이 제조

에 가장 적합한 처리 조건을 나타낸 것이다. 수산화나트륨의 농도가 증가하면 지나친 가수분해가 일어나 피브릴화된 피브로인을 많이 얻을 수 없었으며, 탄산나트륨의 농도가 증가하면 피브릴화가 적게 일어나 종이를 제조하는데 지장을 초래하였다. 위의 처리조건에 의하면 약 75%의 수율을 얻을 수 있으며 피브로인 섬유 길이는 약 1mm이었다.

표 1. 피브로인의 단섬유화 및 피브릴화 최적조건

처리조건		비고
육비	1 : 25	1g의 정련된 절각견에 25ml의 혼합용액
수산화나트륨	0.5%	중량비율
탄산나트륨	4%	중량비율
처리시간	30분	
처리온도	80℃	



그림 3은 얻어진 피브로인 피브릴 섬유를 광학현미경으로 관찰한 것이다. 그림에서 볼 수 있듯이 섬유가 갈라지고 있는 것을 관찰할 수 있다. 이는 섬유가 유안상으로 절단되는 것과 더불어 가늘어지는 피브릴화 현상이 동시에 일어남을 알 수 있다. 이와 같이 화학적 방법으로 피브릴화된 피브로인은 잘 분산되고 뭉침현상이 발생하지 않았다. 일반적으로 실크는 합성섬유와 비교하여 친수성 성질을 지니지만 절대적으로 볼 때 소수성에 가깝다. 이는 실크를 구성하는 아미노산 중 소수성인 글리신과 알라닌이 전체의 75%를 차지하기 때문이다. 그러나 화학적 방법에 의해 처리된 실크 섬유는 펩티드 결합이 절단되었으므로 분자의 말단에 카르복실기와 아민기가 증가하였으므로 보다 친수성 성질을 갖게 된다. 따라서 처리하지 않은 피브로인에 비하여 친수성이 증가하였으므로 물에서 보다 잘 분산되는 것이다. 그림 4는 위의 처리조건에 의하여 피브릴화된 피브로인을 이용하여 종이를 제조한 것이다. 앞의 그림 2와 달리 섬유가 잘 분산되어 있으며, 그 결과 두께 및 표면이 고른 실크 종이를 제조할 수 있었다.

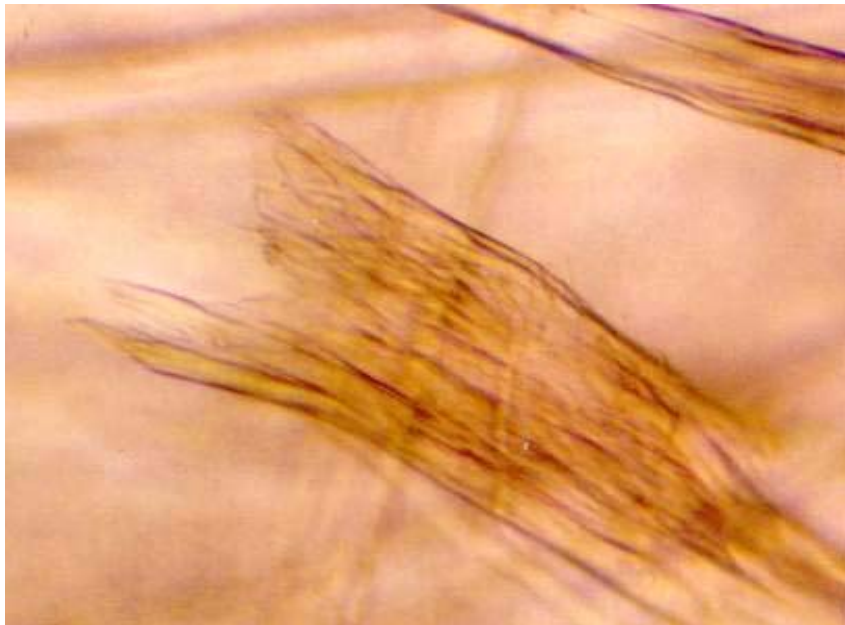


그림 3. 화학적 방법에 의해 피브릴화 되는 실크 피브로인



그림 4. 화학적 전처리에 의해 제조된 실크종이

#### 다. 실크종이의 제조 및 물성평가

##### 1) 재료 및 방법

피브릴화된 피브로인을 접합시키기 위하여 호제로 전분과 poly(ethylene oxide)(PEO)를 단독 또는 혼합하여 사용하였다. 전분은 옥수수 전분을 이용하였으며, PEO는 분자량 100,000과 200,000을 이용하였다. 종이를 면적 250cm<sup>2</sup>당 1g의 피브릴화된 피브로인을 호제용액에 분산시키고 종이틀에 부어 종이를 제조하였다. 제조된 실크 종이의 물성은 L&W(Lorentzen & Wetter) tester에 의해서 인장강도, 인열강도 및 굽힘강도를 측정하였다.

##### 2) 결과 및 고찰

###### 가) 호제의 영향

피브릴화된 실크는 길이가 짧기 때문에 충분한 강도를 갖기 어렵다. 따라서 충분한 강도를 부여하기 위하여 호제를 이용하였다. 전분은 일반적으로 종이의 호제로 많이 이용된다. 전분만을 호제로 사용할 경우 가장 우수한 강도를 지니고 있으나 그림 5(b)에서 보이는 것처럼 접었을 때 접히지 않고 부러지는 현상이 나타났다. 이는 전분을 구성하고 있는 성분에 따른 특징으로 설명된다. 전분은 수용성 선형 다당류인 아밀로즈(amylose)와 불용성 가지형 다당류인 아밀로펙틴(amylopectin)으로 구성되어 있는데, 주로 아밀로펙틴에 의한 현상이라 설명할 수

있다. 전분을 물에서 끓여 주면 아밀로즈가 빠져 나와서 피브릴화 실크를 결합시켜주는 역할을 하게 되고 아밀로펙틴은 강도를 유지하게 된다. 그러나 아밀로펙틴은 가지형 다당류로서 삼차원적 구조를 가지고 있어 유연성이 거의 없다. 따라서 전분만을 호제로 사용할 경우 아밀로펙틴에 의해 강도는 매우 우수하지만 유연성이 결여되어 실크종이를 접었을 때 접히지 않고 부러지는 현상이 발생하는 것이다.

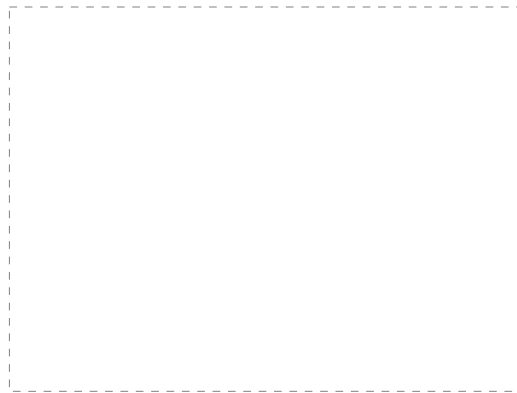
위와 같이 전분만을 이용하는 경우 유연성이 떨어지는 이유가 가지형 다당류인 아밀로펙틴에 의한 것이므로 선형 고분자만을 이용하여 호제로 사용하면 위의 문제가 해결될 수 있을 것으로 예상되어 PEO를 선택하였다. PEO는 선형고분자로 친수성이며 인체에도 무해한 고분자이다. 그림 6(b)은 PEO를 호제로 사용한 실크종이를 접었을 때의 사진이다. 전분을 사용했을 때와는 달리 접었을 때의 부러짐 현상은 볼 수 없다. 그러나 강도가 매우 약할 뿐만 아니라 접힌 상태로 유지되지 않아 형태안정성이 떨어졌다. 종이와 반드시 형태안정성을 지닐 필요는 없지만 PEO만을 호제로 이용한 경우 종이를 접더라도 다시 원래대로 회복하는 정도가 너무 커 보완할 필요가 있다.

따라서 전분의 강도와 PEO의 유연성을 결합시켜 시너지 효과를 기대하고 두 고분자를 혼합하여 호제로 사용하였다. 그림 7은 PEO와 전분을 혼용하여 사용했을 때의 실크종이 사진이다. 그림 7(b)에서 볼 수 있듯이 PEO와 전분을 혼용한 호제를 이용한 경우 접었을 때 접힌 형태를 유지하면서도 부러짐 현상도 나타나지 않았다.

이와 같은 현상은 전분을 이용하여 플라스틱을 만드는 데에도 이용된다. 최근 전분은 천연고분자로 그 이용이 확대되고 있는데 특히 생분해성 플라스틱으로의 활용에 그 초점을 두고 있다. 그러나 전분 단독은 물성의 한계가 있는데 그 중 하나가 바로 잘 부스러지는 성질 즉 brittleness이다. 앞서 언급하였듯이 전분에 함유된 아밀로펙틴으로 인한 현상이지만, 그렇다고 아밀로펙틴을 제거하면 일반적인 물리적 성질이 결여되어 플라스틱 소재로 활용되지 못한다. 이러한 단점을 극복하고자 기존의 합성고분자와 블렌드하는 방법을 많이 이용하고 있다. 선형 고분자(아밀로즈)와 가지형 고분자(아밀로펙틴)가 혼합된 전분에 합성 선형 고분자를 첨가하여 전체적으로 선형고분자의 함량을 증대시킴으로서 두 물질 간의 시너지 효과를 얻는 것이다.



(a)



(b)

그림 5. 진분만을 호제로 사용할 경우



(a)

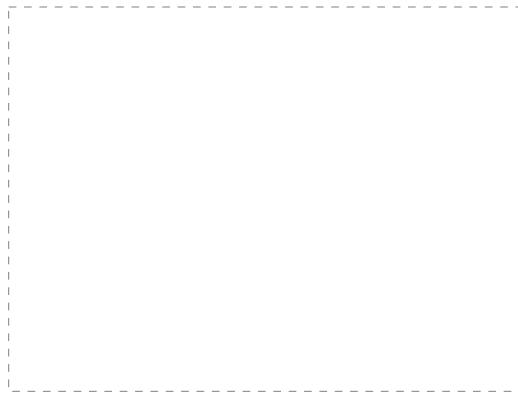


(b)

그림 6. PEO만을 호제로 사용할 경우



(a)



(b)

그림 7. PEO/Starch를 혼용하여 호제로 사용할 경우

나) 실크 종이의 물성

위의 결과에 의하여 각 호제로 제조된 종이의 물성을 측정하였다. 우선 적절한 분자량의 PEO를 선별하기 위하여 분자량 100,000과 200,000의 PEO를 이용하여 실크 종이를 각각 제조하고 인장강도를 측정하여 그 결과를 표 2에 나타내었다. PEO의 농도는 5%를 유지하였다. 제조된 종이의 두께는 서로 분자량 100,000과 200,000이 각각 337과 308 $\mu\text{m}$ 로 이는 분자량에 의한 영향보다는 제조상의 오차에 기인한다. 따라서 호제에 대한 영향을 보다 정확하게 평가하기 위해서는 종이의 면적당 중량(grammage)으로 인장강도의 값을 보정해야 한다. 각 시료의 면적당 중량은 59.40(MW 100,000)과 53.90(MW 200,000)이었다. 이를 보정한 Stress/Grammage값은 분자량 100,000과 200,000이 각각 8.50과 26.69로 분자량 200,000의 PEO를 호제로 이용하는 경우 종이의 인장강도가 크게 향상됨을 알 수 있다. 이는 고분자량의 고분자는 저분자량의 고분자에 비하여 분자간 얽힘이 보다 강하고 복잡하게 일어나기 때문이다. 이러한 결과를 바탕으로 이 후의 실험에서는 분자량 200,000의 PEO를 사용하였다. 또한 호제의 농도 5%인 경우 접착력은 매우 우수하나 소모되는 PEO와 전분의 양이 매우 많기 때문에 호제는 최소한의 양을 유지하면서 제조되는 실크종이는 어느 정도 강도를 유지할 수 있는 최적 농도를 찾아낸 결과 1%의 농도가 가장 적절한 것으로 나타났으므로 이후 실험은 호제의 농도를 1%에서 실험하였다.

표 2. PEO의 분자량에 따른 인장강도

	PEO 분자량	
	100,000	200,000
Thickness ( $\mu\text{m}$ )	337	308
Grammage ( $\text{g}/\text{m}^2$ )	59.40	53.90
Force (N)	1.38	1.64
Stress (kPa)	506.77	1438.47
Stress/Grammage	8.50	26.69

시료 크기 : 3 cm  $\times$  1 cm

(1) 실크 종이의 인장강도

표 3과 그림 8은 PEO와 전분을 혼용하여 사용했을 때의 인장강도를 나타내었다. Stress/Grammage 값을 비교해보면 호제로서 전분만을 사용했을 때의 실크종이의 인장강도가 가장 우수하게 나타났고 PEO만을 사용한 실크종이의 인장강도가 가장 낮게 나타났다. PEO의 경우 앞의 결과와 다른 값을 갖는 것은 앞의 경우 5%의 호제농도를 이용한 경우이고 표 2의 값은 1%의 호제농도를 이용했기 때문이다. PEO와 전분을 혼합하여 사용했을 때는 전분의 양이 많을수록 인장강도가 증가하였다. 그러나 사용되는 PEO와 전분의 양이 동비를 이루었을 때에는 그림 5에서 보여주는 것처럼 접었을 때 부러짐 현상이 발생하여 종이로서의 기능이 부족하기 때문에 전분의 양은 PEO의 양보다 적어야 하며 그 적정 비율은 7:3 정도라 할 수 있다.

표 3. PEO와 전분의 혼합비율에 따른 인장강도

	Starch	PEO	P:S=7:3	P:S=8:2
Thickness ( $\mu\text{m}$ )	387	388	507	398
Grammage ( $\text{g}/\text{m}^2$ )	54.37	63.10	79.80	52.27
Force (N)	8.38	1.56	8.19	3.48
Stress (kPa)	2186.50	406.66	1623.38	883.79
Stress/Grammage	40.32	6.62	20.91	17.17

시료 크기 : 3 cm × 1 cm



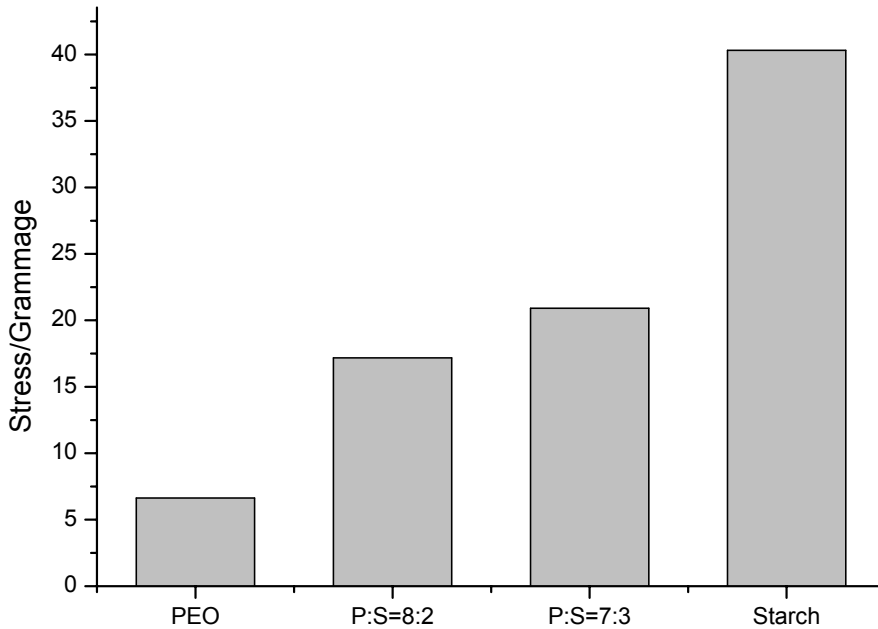


그림 8. PEO와 전분의 혼합비율에 따른 실크 종이의 인장강도

## (2) 실크 종이의 인열강도

종이에 있어서 인장강도는 종이를 한 방향으로 잡아 늘렸을 때의 저항성을 나타낸다. 한편 인열강도는 종이를 찢었을 때의 저항성으로 종이의 물성 평가에 있어 중요한 항목 중 하나이다. 실크종이의 인열강도는 인장강도의 결과와 다르게 나타났다(표 4, 그림 9). Tearing/Grammage 값을 비교해 보면 호제로서 PEO만을 사용한 실크종이의 경우 인열강도는 2.86으로 가장 높았고 전분만을 사용한 경우 인열강도는 측정할 수 없었다. 그 이유는 호제로서 전분만을 사용할 경우 찢어지지 않고 부서지는 경향이 있기 때문이다. 그러나 두 호제를 혼용할 경우 전분의 함량이 30%인 경우 20%일 때보다 약 3.3배 높게 나타났다. 일반적으로 인열강도는 고분자의 분자사슬이 잘 얽혀있을 때 증가하게 된다. 따라서 PEO와 전분이 7:3의 비율로 있을 때 8:2의 비율보다 분자사슬이 잘 얽혀있는 것으로 판단되나 인장강도와는 상관성은 불투명하다.

표 4. PEO와 전분의 혼합비율에 따른 인열강도

	Starch	PEO	P:S=7:3	P:S=8:2
Thickness ( $\mu\text{m}$ )	472	363	430	435
Weight (mg)	0.31	0.26	0.28	0.26
Grammage ( $\text{g}/\text{m}^2$ )	73.15	62.20	67.18	61.79
Tearing (mNm)	-	178	121	34
Tearing/Grammage	-	2.86	1.80	0.55

시료 크기 : 7 cm × 6 cm

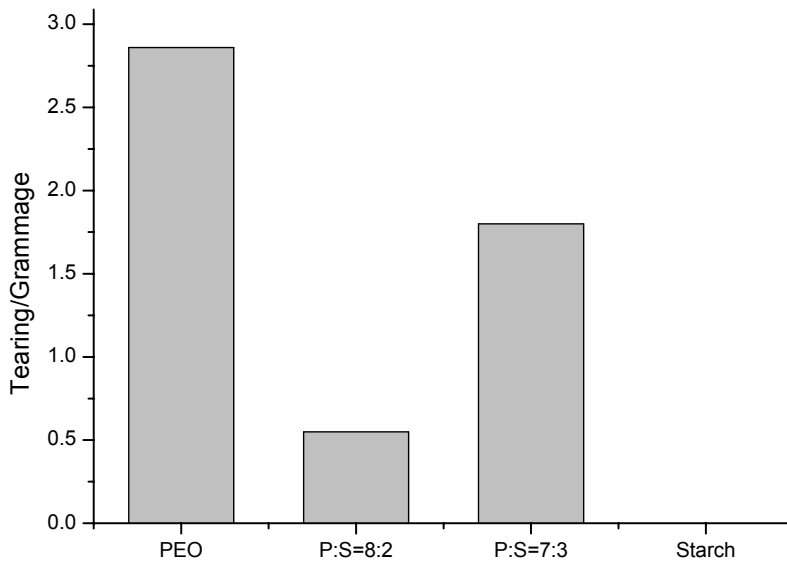


그림 9. PEO와 전분의 혼합비율에 따른 실크 종이의 인열강도

(3) 실크 종이의 굽힘강도

종이의 굽힘강도 또한 종이의 물성을 평가하는데 중요한 요소이다. 굽힘강도가 지나치게 큰 경우 종이는 뻣뻣하며 반대로 지나치게 낮은 경우 종이에 힘이 없게 된다. 표 5와 그림 10은 각각의 호제를 사용하여 제조한 실크종이의 굽힘강도를 나타낸 것이다. Bending resistance는 시료를 5° 굽힐 때의 강도로서 Bending/Grammage 값을 비교할 때 PEO 단독이 0.0331로 가장 낮고 전분 단독은 0.0304를 나타냈다. 앞서 호제의 영향에서 PEO 단독을 경우 지나치게 종이 힘이 없다고 하였는데 이 결과가 뒷받침해주고 있다. PEO와 전분을 혼합하는 경우 그 비율이 7:3일 때 가장 높게 나타났다. 이는 인열강도와 일치하는 경향으로 실크 종이의 호제로 PEO와 전분을 7:3으로 혼합하여 이용하는 것이 가장 효과적임은 보여주고 있다.

표 4. 실크종이의 굽힘강도

	Starch	PEO	P:S=7:3	P:S=8:2
Thickness ( $\mu\text{m}$ )	354	346	382	482
Weight (mg)	0.09	0.12	0.12	0.13
Grammage ( $\text{g}/\text{m}^2$ )	49.53	60.54	64.4	70.37
Bending (mNm)	1.64	1.38	2.46	2.16
Bending/Grammage	0.0331	0.0227	0.0379	0.0304

시료 크기 : 5 cm × 3.8 cm

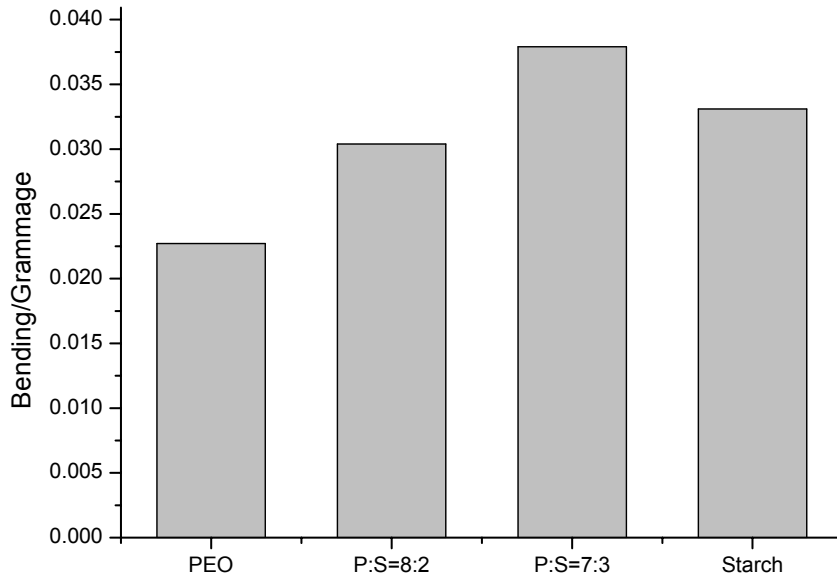


그림 10. PEO와 전분의 혼합비율에 따른 실크 종이의 굽힘강도

## 라. 실크 종이의 염색

### 1) 재료 및 방법

실크가 산성염료에 대해서 매우 반응성이 좋고 고온 색을 띠기 때문에 피브릴화 섬유를 산성염료를 이용하여 먼저 염색한 후 위에서 확립한 실크 종이 제조법에 의하여 제조하였다. 염료는 Yellow 17(Rifa Acid Fast Brill. Yellow)과 Blue 204(Supranol Brill. Sky Blue)를 사용하였다.

### 2) 결과 및 고찰

피브릴화 실크는 실크 섬유의 기능을 그대로 보유하고 있다. 실크 섬유는 주로 산성염료에서 염색이 잘되며 견뢰도가 우수하고 매우 아름다운 색을 나타낸다. 그림 11은 종이 제조 전에 미리 염색한 후에 호제가 들어 있는 수용액에 염색한 피브릴화 실크를 분산시켜 제조한 실크 염색종이이다. 펄프종이는 색지를 만들 경우 선염하는 경우도 있으나 색상이 선명하지 못하기 때문에 아름다운 색상을 나타내게 하기 위해서는 주로 색소를 첨가하여 제조하지만 실크종이는 선염한 피

브릴화 실크를 사용하여도 사진과 같이 선명하고 아름다운 색상을 나타낼 수 있다는 장점이 있다.



Yellow 17



Blue 204

그림 11. 실크 염색 종이

## 2절. 뽕나무/실크 종이의 제조 및 물성평가

### 1. 뽕나무/실크 종이의 제조

실크 종이의 경우 비록 적절한 단섬유화 및 피브릴화 방법의 개발과 호제의 개발로 종이로서 어느 정도의 물성을 갖추었으나 일반 상용 종이 즉 펄프로 만들어진 것에 비하여 다소 떨어진다. 이러한 실크 종이의 단점을 극복하고자 뽕나무 가지에서 섬유를 추출하여 실크와 혼합하여 이용하고자 한다. 뽕나무의 잎은 누에의 유일한 먹이로 뽕나무의 잎의 품질을 잘 유지하는 것이 중요하다. 이를 위하여 봄과 가을로 가지치기를 시행하며 이 때 다량의 뽕나무 가지가 발생한다. 보통 뽕나무 가지는 목재로서는 기능이 없어 폐기되고 있는 실정이다. 따라서 이러한 뽕나무 가지에서 섬유를 추출하여 종이로 제조할 수 있다면 새로운 농가소득원이 될 수 있을 것이다. 뽕나무로 만든 종이는 상지(桑紙)라고 하여 과거에 이용되어 왔으나 주로 이용한 것은 닥나무이다.

### 가. 뽕나무 가지의 섬유화

#### 1) 재료 및 방법

뽕나무 가지를 섬유화하여 종이의 원료로 이용하기 위해서는 우선 뽕나무의 표피로부터 내피를 분리하고 표백하는 과정이 중요하다. 본 연구에서는 다년생 뽕나무의 가지를 채취하여 가지의 껍질을 분리하였다. 분리된 껍질은 물에 24시간 팽윤시켜 칼로 표피와 내피를 분리하였으며 분리된 내피를 이용하여 이후의 실험에 이용하였다.

분리된 내피를 섬유화하기 위해서는 여러 가지 약제를 처리하여 섬유를 약화시켜야 한다. 본 연구에서는 이 과정에서 동시에 표백이 일어나도록 하였으며 이를 위하여 과산화수소를 첨가하였다. 약화, 탈색된 뽕나무 내피섬유는 전통적인 고해 방법으로 분섬하여 종이 제조에 이용하였다.

#### 2) 결과 및 고찰

전통 한지의 공정과 현대 제지 공정에 관한 문헌 조사를 토대로 뽕나무 종이의 제조공정을 체계화하였다. 일반적인 한지의 제조공정은 닥나무의 외피를 채취하여 내피를 분리하고 섬유화를 위하여 섬유를 약화시키고 탈색하여 한지를 제조한

다. 본 연구에서도 이와 유사한 방법으로 뽕나무 섬유를 얻을 수 있었다.

2004년 7월에 채취한 7년생 뽕나무로부터 가지를 채취하여 뽕나무 가지의 외피를 벗겨내고 이를 보관하여 필요할 때 이용하였다. 채취 즉시 뽕나무 가지의 외피를 벗겨내지 않으면 이후에 뽕나무 가지로부터 외피를 분리하기가 용이하지 않으므로, 뽕나무 가지 채취 후 즉시 분리하는 것이 바람직하였다. 뽕나무의 외피는 다시 표피와 내피로 분리되는데 표피는 짙은 갈색으로 뽕나무 종이의 제조에 적합하지 않다. 따라서 분리된 외피로부터 다시 표피와 내피를 분리하여 내피만을 이용하여 뽕나무 섬유를 얻었다.

뽕나무 내피 섬유는 뽕나무의 외피를 하루 정도 물에 담가 분리하였다. 그러나 얻어진 내피는 옅은 갈색을 나타내어 종이로 활용되기 위해서는 표백공정이 요구된다. 동시에 뽕나무 섬유를 얻기 위해서는 내피를 쉽게 분쇄할 수 있어야 하므로 표백과 더불어 섬유의 어느 정도 약화시켜야 할 필요가 있다. 본 연구에서는 이러한 약화공정 및 표백공정을 하나의 단계에서 달성하기 위하여 다음과 같은 방법을 시도하였다.

표 5. 뽕나무 내피의 처리조건

구분	처리 조건
방법1	35% 과산화수소 20ml 증류수 1L, 옥비 1:100, 100℃, 1시간
방법2	Sodium sulfate 4g, Sodium bisulfate 10g 증류수 1L, 옥비 1:100, 100℃, 1시간
방법3	Sodium silicate 10g 증류수 1L, 옥비 1:100, 100℃, 1시간
방법4	Sodium silicate 4g, 35% 과산화수소 10ml 증류수 1L, 옥비 1:100, 100℃, 1시간

일반적으로 과산화수소는 우수한 표백효과를 나타내는 것으로 알려져 있으며 특히 규산나트륨(sodium silicate)을 첨가할 경우 과산화수소의 효과는 배가된다고 알려져 있다. 본 연구에서도 과산화수소 단독 또는 규산나트륨 단독으로 사용하였을 경우 (방법 1, 3)에는 표백이 덜 되거나(그림 12b) 지나치게 섬유화되는(그림 12d) 현상이 발생하였다. 그러나 과산화수소와 규산나트륨을 적절히 혼합하

였을 경우(그림 12e)에는 분섬에 적합한 섬유 강도를 유지하면서 동시에 표백도 만족스러운 정도로 가능하여 방법4의 조건으로 뽕나무 가지 내피의 섬유화를 실시하였다. 한편 일반 단백질 섬유의 표백에 이용되는 sodium bisulfate를 첨가하였을 경우에는 특별한 효과가 나타나지 않았다.



(a) 처리 전 뽕나무 내피



(b) 방법1에 의한 처리 후



(c) 방법2에 의한 처리 후



(d) 방법3에 의한 처리 후



(e) 방법4에 의한 처리 후

그림 12. 뽕나무 내피의 처리조건에 따른 뽕나무 내피의 탈색효과



## 나. 뽕나무/실크 종이의 제조

### 1) 재료 및 방법

뽕나무 종이의 경우 실크 종이를 제조하는 과정에서 필요한 호제를 필요로 하지 않기 때문에 분섬된 뽕나무 섬유만을 이용하여 종이의 제조가 가능하였다. 일정량의 뽕나무 섬유를 채반에 분산시킨 후 물을 빼내어 종이를 제조하였다. 건조 후 압착기를 이용하여 종이를 압착시켰다. 또한 뽕나무/실크 종이의 제조에 있어서는 뽕나무 섬유와 분섬된 실크 섬유를 각각 2:1, 3:1로 혼합하여 종이를 제작하였다. 뽕나무 내피 섬유는 물리적으로 믹서를 이용해 분섬시키고, 실크 피브로인은 앞의 1절에서 확립된 방법으로 분섬하였다.

### 2) 결과 및 고찰

뽕나무 100% 섬유는 고해 공정을 수작업으로 진행한 관계로 종이 내 섬유의 굵기가 불균일하였으나, 100% 실크 종이에 비하여 작업이 용이하고 또한 별도의 호제가 요구되지 않았다. 뽕나무와 실크를 혼합하여 제조하는 경우에 가장 큰 문제점은 두 섬유를 고루 분산시키는 것이다. 뽕나무의 함량이 실크에 비하여 적을 경우에는 섬유간 뭉침현상이 발생하여 균일한 종이를 얻지 못 하였다. 그러나 뽕나무 섬유가 50%이상 함유하는 경우에는 비교적 균일한 종이를 제작할 수 있었으며 이에 따라 각각 뽕나무 섬유가 75%, 67% 함유된 종이를 제작하였다.

표 6. 뽕나무 가지섬유가 함유된 실크 종이의 제조조건

구분	처리조건
방법1	뽕나무 100%를 36.61g./m <sup>2</sup> 의 밀도로 종이를 제작
방법2	뽕나무 75%와 실크 피브로인 25%를 36.61g./m <sup>2</sup> 의 밀도로 종이를 제작
방법3	뽕나무 66.6%와 실크 피브로인 33.3%를 36.61g./m <sup>2</sup> 의 밀도로 종이를 제작
방법4	실크 피브로인 100%를 36.61g./m <sup>2</sup> 의 밀도로 종이를 제작

그림 13은 위의 제조조건에 따라 제작된 각각의 종이를 나타낸 것이다.



(a) 실크 피브로인 100%



(b) 뽕나무섬유 75% +  
실크 피브로인 25%



(c) 뽕나무 섬유 66.6% +  
실크 피브로인 33.3%



(d) 뽕나무 섬유 100%

그림 13. 제작된 뽕나무/실크 종이의 형태

다. 뽕나무 섬유 함유 실크종이의 물성 측정

1) 재료 및 방법

뽕나무 섬유 함유 실크종이의 물성은 L&W (Lorentzen & Wettre) tester에 의해서 인장강도 (Tensile strength), 굽힘강도 (Bending strength)를 측정하였다. 또한 새집증후군과 관련 있는 포름알데히드의 흡수량은 KS F3104법을 약간 변형하여 측정하였다. 본 연구에서는 그림 14와 같이 포름알데히드를 밀폐된 용기 안에서 넣고 증발되어 물에 흡수되는 양을 각각의 실크 종이 가 있는 경우와 없는 경우를 비교하여 측정하였다.



그림 14. 포르말린 흡수도 시험법

2) 결과 및 고찰

가) 뽕나무/실크 종이의 인장강도

표 7과 그림 15는 뽕나무 섬유와 실크 섬유의 혼합비에 따른 인장강도의 차이를 보여주고 있다. 뽕나무 종이의 인장강도는 실크 종이에 비하여 10배 정도의 강한 인장강도를 나타내었다. 이는 뽕나무 섬유의 경우 실크 섬유에 비하여 섬유 길이가 길어 섬유간 결합력이 크기 때문으로 생각된다.

한편 두 섬유를 혼합한 경우에는 뽕나무 종이에 비하여 인장강도는 떨어지지만, 여전히 실크 종이에 비하여 강한 인장강도를 나타내었다. 특이한 것은 실크 섬유의 함량이 25%일 때보다 33%일 때 인장강도가 더 강한 것으로 나타났다. 이는 앞서 언급한 섬유간의 뭉침현상에 기인한 것으로 판단된다. 즉, 뽕나무와 실크를 혼합한 종이를 제조하는 경우 어느 한 성분의 양이 많은 경우 두 섬유가 고르게 분산되지 않고 자기 자신끼리 뭉치는 현상이 발생하였다. 육안으로 두 섬유의

분리는 뽕나무 섬유 함량이 50% 이상일 때 나타나지 않았지만 인장강도의 실험 결과 뽕나무 섬유의 함량이 많을 경우에도 어느 정도의 뭉침현상이 발생하는 것으로 생각된다.

표 7. 뽕나무/실크 종이의 인장강도

	Grammage (g/m <sup>2</sup> )	Strain (%)	Stress (kPa)	Stress/ Grammage
Silk 100%	153	2.8	610	4.0
Silk/Mulberry 1/2	147	3.8	2500	17.0
Silk/Mulberry 1/3	167	3.3	1960	11.7
Mulberry 100%	187	4.04	5340	28.6

시료 크기 : 3cm × 1cm

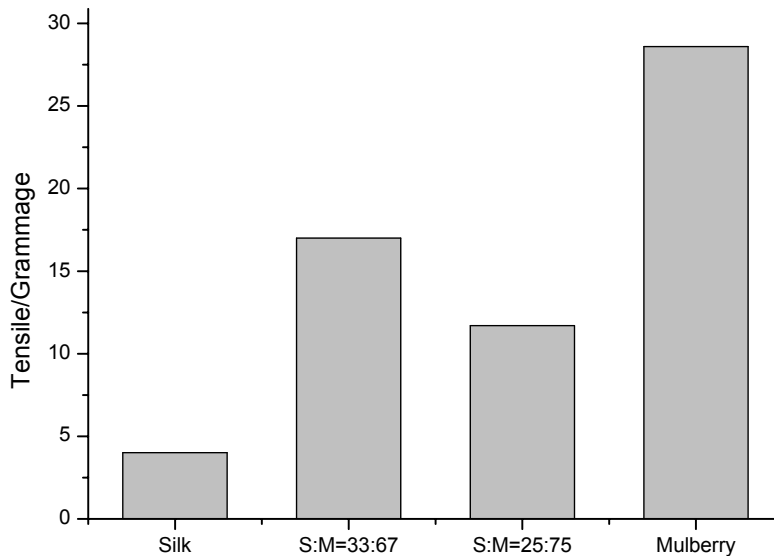


그림 15. 뽕나무/실크 종이의 인장강도

나) 뽕나무/실크 종이의 굽힘강도

굽힘강도는 일정한 각도로 시편을 굽히는 데 소요되는 힘을 측정하는 것으로 종이의 유연성 또는 반대로 형태안정성을 나타내는 척도이다. 인장강도 결과에서와 유사한 결과가 굽힘강도에서도 나타났다. 즉 실크 종이의 굽힘강도가 가장 낮았으며 뽕나무 종이의 경우가 가장 높았다. 여기에서도 실크의 함량이 33%일 때 가장 강한 굽힘강도를 나타낸 것으로 보아 앞서 언급한 섬유간의 뭉침현상이 원인인 것으로 판단된다. 이러한 굽힘강도의 증가는 종이의 형태안정성을 향상시켜 포장재 및 벽지 등에 적합한 물성을 갖게 한다.

표 8. 뽕나무/실크 종이의 굽힘강도

	Thickness ( $\mu\text{m}$ )	Grammage ( $\text{g}/\text{m}^2$ )	Bending ( $\text{mNm}$ )	Bending/ Grammage
Silk 100%	512	164	2.78	0.0169
Silk/Mulberry 1/2	438	146	4.88	0.0334
Silk/Mulberry 1/3	442	150	3.68	0.0245
Mulberry 100%	425	145	5.83	0.0402

시료 크기 : 5cm × 3.8cm

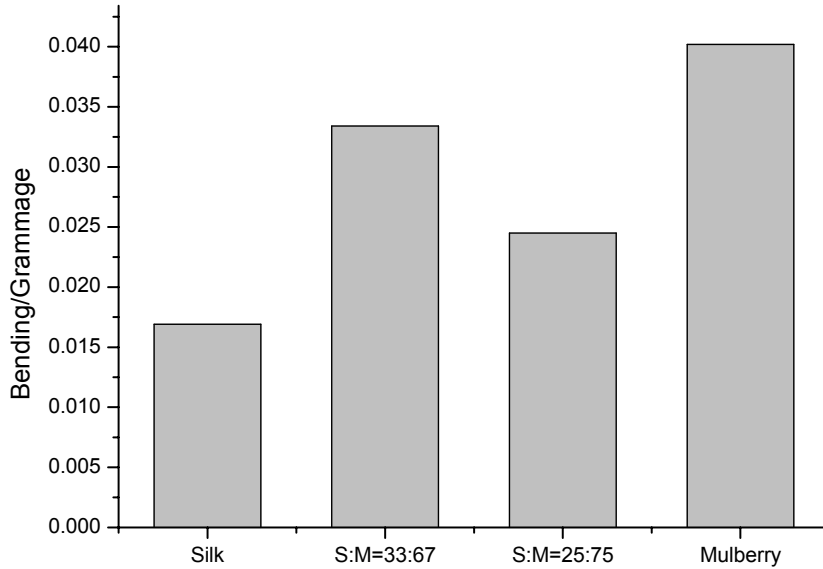


그림 16. 뽕나무/실크 종이의 굽힘강도

#### 다) 뽕나무/실크 종이의 포름알데히드 제거능

포름알데히드는 접착제 또는 제지 과정에서 호제로 사용되는 전분의 부패를 방지하기 위하여 종이에 포함된다. 물론 엄격한 규제를 받고 있지만 최근 사회적으로 문제가 되고 있는 새집증후군과 관련이 깊은 물질이다.

제작된 뽕나무/실크 종이의 포름알데히드 제거능을 시험한 결과 뽕나무 종이보다 실크 종이의 제거능이 더 우수하였다. 특히 실크가 33% 함유된 경우 제거능은 100% 실크 종이보다 향상된 결과를 보였다. 이는 실크 함유가 고르게 뽕나무 섬유 사이에 존재하여 섬유간 뭉침현상이 발생할 때 보다 표면적이 증가하였기 때문으로 판단된다. 특히 사용된 시편의 면적당 제거효율(Removal Index)은 일반 종이에 비하여 4배 정도로 매우 우수한 성질을 갖는다.

표 9. 뽕나무/실크 종이의 포름알데히드 제거능

	A <sub>415</sub>	Removal Efficiency (%)	Removal Index
Control	0.70	-	-
Silk 100%	0.28	65.3	3.60
Silk/Mulberry 1/2	0.27	67.3	4.40
Silk/Mulberry 1/3	0.33	58.1	2.83
Mulberry 100%	0.35	55.8	3.12
Commercial Paper	0.39	50.6	1.43

시료의 무게 0.3g

#### 라. 뽕나무/실크 종이의 염색

##### 1) 재료 및 방법

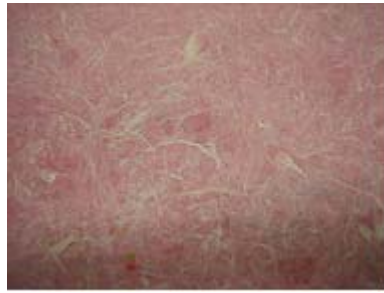
뽕나무 섬유가 함유된 실크 종이의 염색성을 살펴보기 위하여 분섬된 뽕나무 섬유와 실크 섬유를 각각의 염료로 염색한 후 종이를 제작하였다. 염료로는 RIFA ACID FAST RED RS 200(적색)과 Supranol Brill. Sky Blue(청색)를 사용하였다.

##### 2) 결과 및 고찰

제작된 뽕나무/실크 종이는 각각, 붉은색(RIFA ACID FAST RED RS 200)과 청색(Supranol Brill. Sky Blue)으로 염색을 하였다. 일반적으로 이러한 산성염료는 단백질 섬유에는 적합하지만 뽕나무 섬유와 같은 셀룰로오스 계통에는 부적합하다. 그러나 이러한 특성을 이용하면 포장지 또는 벽지에 수려한 무늬를 나타낼 수 있다. 그림에서 보듯 뽕나무 종이는 염색성이 떨어지지만 실크가 함유되면 발색이 화려하고 또한 염색되지 않은 뽕나무 섬유로 인하여 아름다운 무늬가 나타났다.



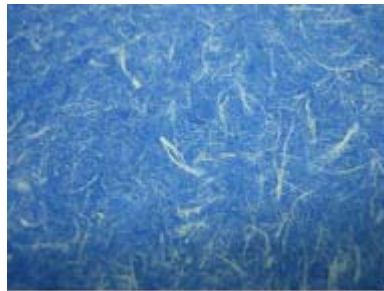
뽕나무 100%



실크 : 뽕나무 = 1:2



뽕나무 100%



실크 : 뽕 = 1:2

그림 17. 뽕나무/실크 종이의 염색



### 3절. 실크 종이 또는 뽕나무/실크 종이의 시작품 개발

#### 1. 실크 피브로인의 피브릴화의 체계화

앞서 실크 피브로인의 피브릴화의 최적 조건으로 수산화나트륨과 탄산나트륨을 각각 0.5%와 4%를 혼합한 용액을 이용하고 80℃에서 30분간 처리하는 것으로 보고하였다. 이는 실험자의 경험에 의하여 처리시간을 30분을 조절한 것으로 이 기술을 이전하기 위해서는 보다 체계적인 방법이 요구된다. 따라서 본 연구에서는 보다 체계적으로 확립하기 위하여 다음의 연구를 수행하였다.

#### 가. 재료 및 방법

2L의 반응조에 1L의 수산화나트륨과 탄산나트륨 혼합용액을 넣고 80℃를 유지하도록 하였다. 여기에 40g의 절각건을 넣어 피브릴화를 실시하였다. 이때 교반기에는 회전토크를 측정할 수 있는 소프트웨어를 연결하여 피브릴이 진행되는 동안의 회전토크의 변화를 측정하였다.

#### 나. 결과 및 고찰

그림 18은 피브릴화 공정 중 회전토크의 변화를 측정된 것이다. 교반기는 절각건을 넣기 전부터 회전시켜 안정화시킨 후 절각건을 투입하였다. 초기 회전토크의 증가는 절각건을 넣으면서 발생한 것으로 이 후 절각건이 반응조 내에 안정하게 자리를 잡으면 다시 안정화되었다. 2000초까지 큰 변화가 없다가 그 이후 회전토크가 심하게 요동치기 시작하는 점부터 피브릴화가 일어났다. 회전토크가 크게 변화를 나타내는 것은 일부 피브릴화가 진행된 부분과 아직 피브릴화가 진행되지 않은 부분간의 마찰에 의한 것으로 판단된다. 피브릴화가 시작된 후 약 1000초 이후 회전토크는 안정화되고 서서히 감소되는데 이 때 피브릴화가 끝난 것으로 판단하고 시료를 꺼내 종이를 제조한 결과, 기존의 결과와 일치하였다. 반응을 계속 진행시킬 경우 회전토크는 다시 불안정해지는데 이는 지나친 가수분해가 일어나 피브릴이 최종적으로는 완전히 용해되는 것을 판단된다. 실제 반응을 계속 지속하면 실크 피브릴의 수율이 급격히 감소한다.

이상의 실험결과 실크 피브로인의 피브릴화는 1차 회전토크의 변화가 종료된 후 완료된 것으로 판단할 수 있으며 이 후 시작품 제작에는 이 회전토크의 변화를 보고 피브릴화를 종료하였다.

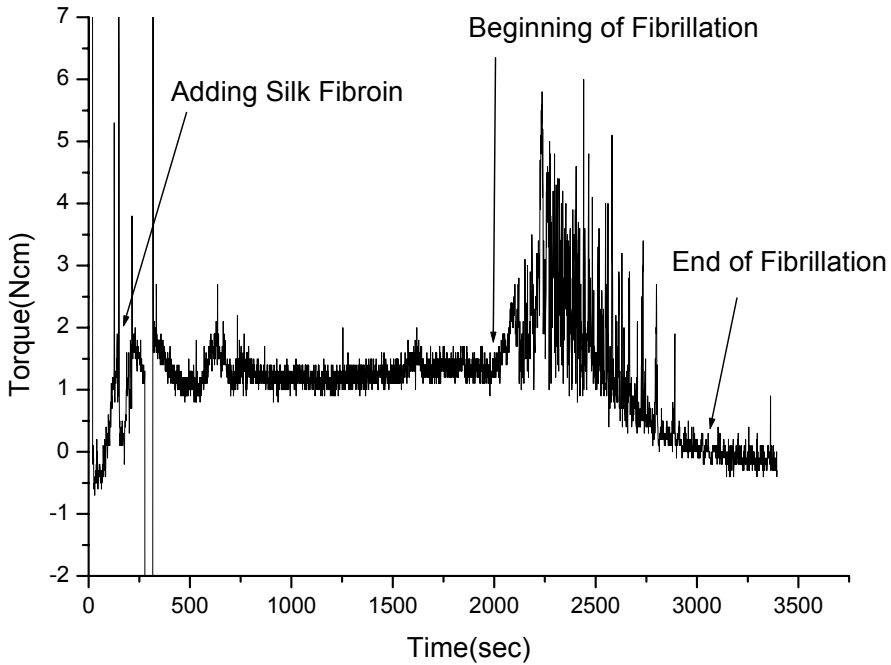


그림 18. 실크 피브로인의 피브릴화 공정 중의 회전 토크 변화

## 2. 실크 종이 시작용 제작을 위한 초지기의 설계 및 시작용 제작

초지기는 종이를 만들기 위한 첫 단계로 종이의 크기 및 중량을 결정하는 매우 중요한 장치이다. 1절과 2절의 실크 종이 제작에는 기존의 한지 제작과정과 동일한 방법을 이용하였다. 즉 섬유를 호제에 분산시키고 종이틀을 섬유용액에 담근 후 떠내는 방식을 이용하였다. 그러나 이 방법의 경우 고른 시편을 얻는데 매우 큰 어려움이 발생한다. 따라서 보다 균일한 시작용을 제조하고자 다음의 초지기를 설계하였다.

### 가. 초지기의 구성

초지기는 섬유와 호제를 담을 수 있는 상부통과 섬유가 걸러지는 채받침대 그리고 물이 배수될 수 있는 하부통으로 구성된다. 시작용의 크기는 25×25cm의 크기를 갖도록 설계하였다. 그림 19는 초지기의 전체 설계도이다. 초지기의 상부통

은 그림과 같이 열리도록 제작하여 종이를 쉽게 꺼낼 수 있도록 하였다. 또한 하부 통은 물의 배수를 신속하게 하기 위하여 밸브를 달았으며 물이 배수되는 동안 와류가 발생하는 것을 방지하기 위하여 배수구 바로 위에 사각의 작은 관을 설치하였다.



그림 19. 초지기의 모형도



그림 20. 초지기 상부통의 설계

그림 21. 초기기의 하부설계

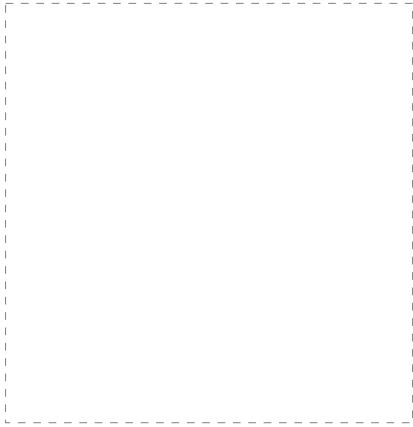


그림 22. 초기기의 채받침대

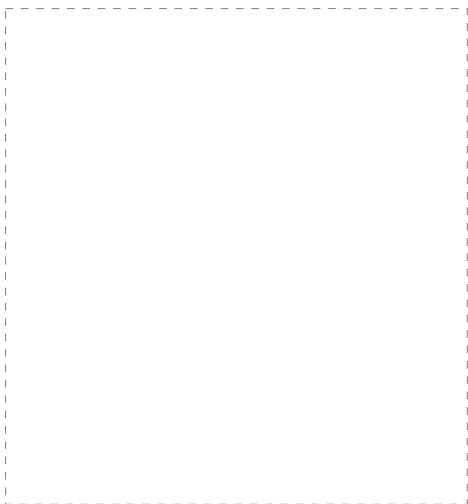


그림 23. 초기기의 배수통 설계

#### 그림 24. 완성된 초지기의 모습

##### 나. 초기기를 이용한 시작품의 제조

우선 채반침대 위에 섬유를 걸을 수 있는 조밀한 망을 설치한다. 이 후 상부통을 닫고 나사로 조이고 초지기 내부를 호제로 채운다. 이제 일정 양의 섬유를 넣고 특수 설계된 타공판을 이용하여 섬유가 호제 내에 고르게 분산되도록 한다. 섬유가 고르게 분산되면 하부통의 배수밸브를 열어 호제가 배수되면 섬유는 망에 걸러지고 초지가 완성이 된다. 완성된 초지는 상부통을 열어 회수하고 다시 새로운 망을 설치하고 위의 과정을 반복한다. 그림 25는 초기기를 이용하여 제작한 시작품이다.

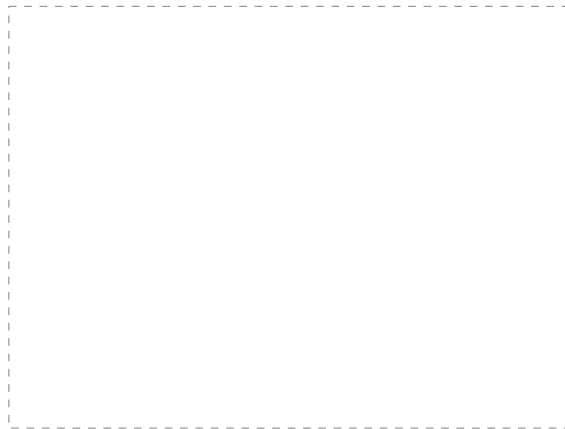


그림 25. 초기기를 이용한 실크 종이 시작품

#### 다. 실크 종이의 경제성 평가

절각견 1kg을 가공하는데 소요되는 총 원료가격의 비용은 다음 표 10과 같다. 여기에 수도, 전기 등의 제반 비용을 감안하면 1kg의 처리에 12,000원정도의 비용이 수반될 것으로 생각된다. 한편 1kg의 절각견의 피브릴화하면 25%의 손실이 발생하므로 이를 감안하면 1kg의 최종 피브릴화된 실크 피브로인을 생산하기 위해서는 16,000원 전후의 원료비용이 예상된다. 따라서 1kg의 실크 종이를 생산하기 위해서는 인건비 등의 제반비용을 감안하면 20,000원대 초반에서 가격이 형성될 것으로 예상된다. 실크 종이 1kg은 일반 A4 용지 기준으로 약 213장에 해당한다. 장당 가격은 약 120원대가 될 것이다.

한편 뽕나무 1kg을 가공하는데 소요되는 총 원료가격의 비용을 다음 표 11과 같다. 뽕나무 1kg의 처리비용은 실크에 비하여 저렴하여 kg당 8,000원 정도가 예상되며 표백 및 피브릴 과정에서의 손실은 극비 미비하므로 무시해도 좋을 듯싶다. 따라서 뽕나무 종이 100% 1kg은 약 15,000원 정도가 적합할 것으로 생각된다. 장당 가격은 역시 A4를 기준으로 하면 약 70원대이다.

뽕나무/실크 종이의 경우 뽕나무와 실크의 비율을 1:2로 했을 때 최적이었으므로 이를 고려한다면 장당 90원대에서 가격이 형성될 것으로 보인다.

본 연구에서 개발된 종이의 단가는 기존의 펄프 종이에 비하여 월등히 높은 단가를 형성한다. 그러나 포름알데히드 제거능이나 실크가 갖는 고유의 소취성 등을 감안하면 그 만한 충분한 가치가 있다고 판단된다.

표 10. 절각견 1kg의 처리비용

	소요량	금액(원)
절각견	1kg	10,000
수산화나트륨	125g	150
탄산나트륨	1kg	1,150
총액		11,300

표 11. 뽕나무 1kg의 처리비용

	소요량	금액(원)
뽕나무	1kg	3,000
규산나트륨	400g	2,200
과산화수소	1L	1,750
총액		6,950



## 4절. 실크 종이 제조공정에서 발생하는 실크 세리신의 저분자화

### 1. 지지체의 선별

실크 세리신은 고온고압법에 의하여 추출할 경우 그 분자량이 약 70,000정도이다. 따라서 실크 세리신과 같은 고분자 기질을 대상으로 효소 반응의 경우 가장 큰 문제점은 기질의 확산속도이다. 일반적으로 효소 고정화에 이용되는 지지체는 비드, 젤, 막, 섬유 등의 형태로 가공되어 이용된다. 이들 중 다공질 비드 형태가 가장 많이 이용되는데, 이는 효소가 부착될 수 있는 면적이 여러 형태 중 가장 크기 때문이다. 그러나 이러한 다공질 비드는 저분자 기질을 이용하는 반응에서는 유리하나 고분자 기질을 이용하는 반응에서는 기질의 확산속도가 크게 저하되어 효소의 반응성을 떨어뜨리게 된다. 일반적으로 고분자 기질을 대상으로 하는 효소 반응의 경우 지지체의 표면에만 고정화시키는 것이 바람직하다고 알려져 있다. 기질의 확산속도를 증대시키는 또 다른 방법은 반응기 내에 교반속도 또는 유속을 증대시키는 방법이다. 이러한 경우 기계적 성질이 우수한 지지체가 요구된다. 이러한 특성을 만족시키는 지지체로 섬유가 가장 우수하다. 섬유는 여러 가지 형태로 가공이 가능하며, 비표면적도 상당히 넓고 기계적 성질도 우수하여 고분자 기질을 대상으로 하는 효소 고정화에 적합한 것으로 생각된다.

### 가. 섬유상 지지체를 이용한 효소의 고정화

#### 1) 재료 및 방법

본 연구에서는 현재 상용되는 섬유 중 실크와 나일론을 대상으로 그 표면에 단백질 분해 효소인 트립신을 고정화하여 고정화 효소의 활성도를 알아보았다. 효소의 고정화는 먼저 지지체의 표면을 산 가수분해 한 후 10% glutaraldehyde 용액을 이용하여 활성화시킨 다음 트립신을 고정하였다. Glutaraldehyde 이외에 N-hydroxysuccinimide을 이용하여 활성화시킨 후 트립신을 고정하였으나, 반응이 복잡하고 glutaraldehyde에 비하여 활성의 증가가 뚜렷하지 않아 이후의 실험에서는 glutaraldehyde를 이용하여 지지체를 활성화시켰다. 효소의 활성은 고분자 단백질 기질인 azocasein을 이용하였다. 반응 후 일정 양을 채취하여 10% TCA를 첨가하여 원심분리 후 상등액을 자외선/가시광선 분광계를 이용하여 흡광도를 측정하였다.

## 2) 결과 및 고찰

그림 26은 시간에 따른 고정화 효소에 의한 고분자 기질(azocasein)의 가수분해량을 나타낸 것이다. 또한 표 12는 각각의 지지체에 고정된 효소의 활성을 나타낸 것이다. 그림 26과 표 12에서 나타난 결과를 보면 나일론과 실크 모두 고정하지 않은 트립신에 비하여 활성이 감소하는 것을 알 수 있다. 그러나 이러한 현상은 효소를 고정하는 경우 일반적인 결과이다. 실크와 나일론을 각각 지지체로 하는 경우 실크에 고정된 것이 보다 우수한 활성을 나타내었다. 이는 나일론의 표면보다 실크 표면의 성질이 보다 친수성이기 때문이다. 효소 고정화에 있어 지지체 표면의 친수성은 중요한 요소이다. 소수성 지지체에 효소가 고정되는 경우 효소의 소수성 부분이 지지체의 표면과 소수성 상호작용(hydrophobic interaction)을 하여 효소의 변성을 유발한다. 한편 친수성 지지체의 경우에는 지지체 표면에 보다 많은 물분자가 존재하므로 지지체와 효소간의 소수성 상호작용을 억제하기 때문이다.

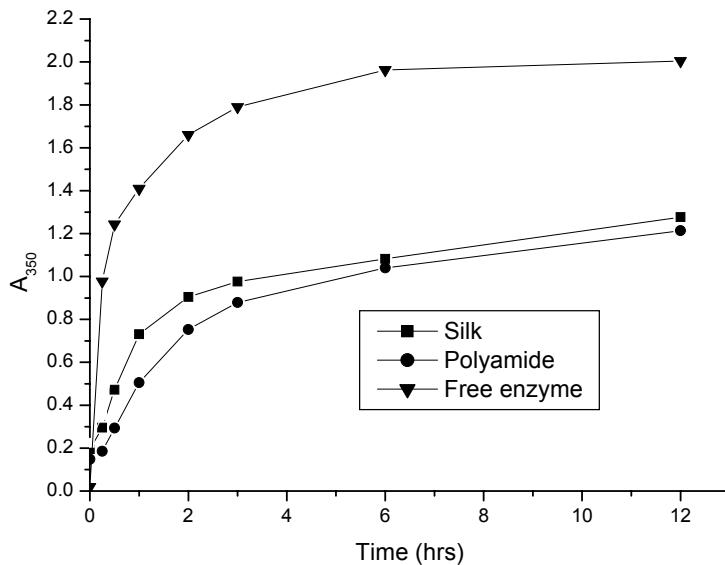


그림 26. 시간에 따른 고정화 효소의 기질 가수분해량

표 12. 고정화 효소의 활성화도

지지체	활성도 ( $\Delta A_{350}/\text{min}\cdot 10^{-2}$ )
트립신	41
실크	9
나일론	5

나. 지지체의 개질을 통한 고정화 효소의 활성화 및 안정성 증대

실크에 고정화 효소의 활성이 나일론에 비하여 활성이 높기는 하지만 고정화하지 않은 트립신에 비하여 아직 활성이 낮다. 이러한 활성의 감소는 효소와 기질 간의 접근성에 기인한다. 따라서 spacer arm을 도입하여 활성의 변화를 살펴보았다.

#### 1) 재료 및 방법

실크 섬유를 10% 글루타알데히드로 활성화한 후 각각의 spacer arm을 도입하였다. 저분자 spacer arm으로 에틸렌디아민(ethylene diamine)과 헥산디아민(hexane diamine)을, 고분자 spacer arm으로 BSA(bovine serum albumin)과 세리신을 도입하였다. Spacer arm을 도입한 후 다시 글루타알데히드로 활성화한 후 효소를 고정하였다. 기질로는 앞서의 고분자 기질이외에 저분자 기질로 합성 기질인 BAPNA를 이용하였다.

#### 2) 결과 및 고찰

그림 27과 표 13은 저분자 spacer arm을 도입하여 효소를 고정화한 결과이다. Ethylene diamine을 도입한 결과 효소의 활성이 다소 증가하였으나 hexane diamine을 이용하는 경우 오히려 감소하였다. Hexane diamine을 spacer arm으로 사용하는 경우 실크의 표면이 붉게 염색되었는데 이는 활성화 반응에서 사용된 glutaraldehyde와의 반응물로 이로 인하여 부착되는 효소의 양이 감소한 것으로 판단된다. 실제 이 경우 효소의 정량이 불가능하였다.

표 14는 저분자 기질(BAPNA)을 이용하여 효소의 활성을 살펴본 것이다. 표 14의 결과 ethylene diamine을 spacer arm으로 사용하는 경우 효소의 부착량이 감소하는데 이는 hexane diamine과 마찬가지로 glutaraldehyde와 반응이 일어나

는데 기인한다. 그러나 비활성도의 증가로 보아 spacer arm의 도입으로 효소의 활성이 약 30% 증가한 것을 알 수 있다.

표 13. 저분자 spacer arm을 도입한 고정화 효소의 활성

시료	활성도 ( $A_{350}/\text{min} \cdot 10^{-2}$ )
직접 고정	0.7
Ethylene diamine	0.9
Hexane diamine	0.4

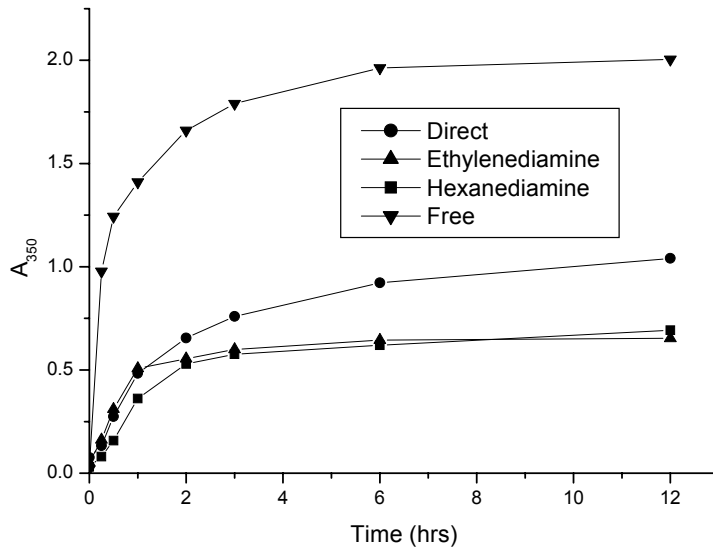


그림 27. 저분자 spacer arm을 도입한 고정화 효소의 고분자 기질에 대한 가수분해

표 14. 저분자 Spacer arm을 도입한 고정화 효소의 저분자 기질에 대한 활성도

시료	효소 부착량(mg/g)	활성도(mM/min)	비활성도(100mM/min · g)
직접고정	8.05	0.57	2.38
Ethylene diamine	6.17	0.59	3.19

저분자 spacer arm 대신 고분자 spacer arm으로 BSA와 세리신을 이용하여 효소를 고정하였다. 그림 28과 표 15는 각각 시간에 따른 고분자 기질의 가수분해량과 저분자 기질에 대한 활성도를 나타낸 것이다.

BSA를 spacer arm으로 사용하는 경우 효소의 부착량은 증가하였으나 비활성도는 감소하였다. 이는 단위면적당 부착되는 트립신의 증가로 이웃하는 트립신이 autolysis가 일어난 것으로 판단된다. 반면 세리신을 부착한 경우 효소의 비활성도가 2배 이상 증가하였다. 이는 세리신이 트립신을 지지체로부터 보다 먼 거리에 위치하게 함으로서 지지체의 영향을 줄이기 때문이다. 또한 단위 면적당 부착되는 트립신의 감소로 트립신간의 autolysis가 억제된 것으로 판단된다.

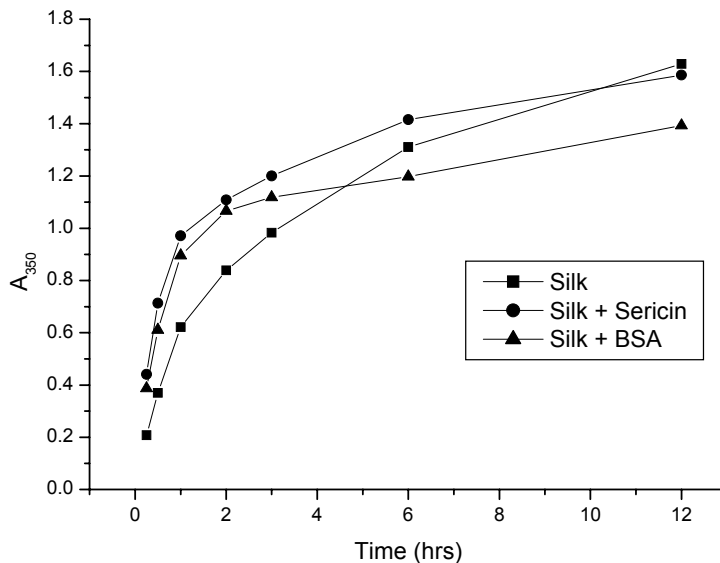


그림 28. 고분자 spacer arm을 도입한 고정화 효소의 고분자 기질에 대한 활성도

표 15. 고분자 spacer arm을 도입한 고정화 효소의 저분자 기질에 대한 활성화도

시료	효소 부착량(mg/g)	활성도(mM/min)	비활성도 (100mM/min · g)
직접고정	8.05	0.57	2.38
BSA	10.8	0.63	1.96
세리신	5.60	0.85	5.08

이러한 세리신의 효과가 다른 합성 섬유에도 미치는지 살펴보기 위하여 폴리에스테르와 나일론에 세리신을 spacer arm으로 이용하여 활성화도를 측정하였다 (표 16). 표 16에서 보듯이 BSA를 spacer arm으로 이용하는 경우에 비하여 세리신을 이용하는 경우 효소의 활성이 증가하는 것을 알 수 있다. 이러한 BSA와 세리신 간의 활성의 차이는 각각의 친수성과도 관련된 것으로 보인다. BSA가 일반적으로 더 친수성이긴 하지만 효소 고정화 과정에서 친수성을 띠는 리신(lysine)과 같은 아미노산이 glutaraldehyde와 반응하므로 친수성이 감소하는 반면, 세리신의 경우에는 반응에 참여하지 않는 세린(serine) 아미노산이 30% 이상을 차지하므로 친수성 성질을 유지하기 때문이다.

표 16. 고분자 spacer arm을 도입한 여러 지지체의 고분자 기질에 대한 활성화도

시료	활성도 ( $A_{350}/\text{min} \cdot \text{g} \cdot 10^{-2}$ )
실크	1.23
실크 + BSA	2.04
실크 + 세리신	2.38
폴리에스테르	1.19
폴리에스테르 + BSA	0.89
폴리에스테르 + 세리신	1.10
나일론	1.16
나일론 + BSA	0.79
나일론 + 세리신	1.30

이상의 결과를 바탕으로 실크 세리신을 실크 표면에 spacer arm으로 부착하고 트립신을 고정하여 실제 실크 세리신이 안정한 온도인 50℃에서의 효소의 안정성에 대하여 실험한 결과를 그림 29에 나타내었다. 효소를 고정화하는 경우 온도에 대한 안정성이 증가한다. 특히 세리신을 spacer arm으로 사용하는 경우 50℃에서도 90%이상의 활성을 유지하는 것을 알 수 있다. 이러한 효과는 고분자 spacer arm일 경우 더욱 크다. 이는 효소가 어느 특정한 한 부위에만 고정되는 것이 아니라 spacer arm과 효소간의 다중 결합으로 부착됨으로서 효소 분자내의 움직임이 억제되고, 그 결과 효소의 안정성이 증대되는 것으로 판단된다.

고정화 효소의 장점은 효소를 재활용할 수 있다는 점이다. 그림 30은 실제 세리신을 기질로 하여 각 고정화 효소에 대하여 반복 실험한 결과이다. 실크에 직접 고정하거나 ethylene diamine을 spacer arm으로 하는 경우에는 1회 반응 후 효소의 활성이 50% 이상 감소하였다. 이는 지지체의 소수성으로 인하여 기질인 세리신과 지지체 간에 소수성 결합이 발생하고 그 결과 효소의 활성이 감소하는 것으로 판단된다. 반면, BSA와 세리신을 spacer arm으로 하는 경우에는 5회의 반복하더라도 80% 이상의 활성을 유지하였다. 따라서 세리신을 spacer arm으로 하여 효소를 고정하는 것이 가장 바람직한 효소 고정화 방법으로 판단된다.

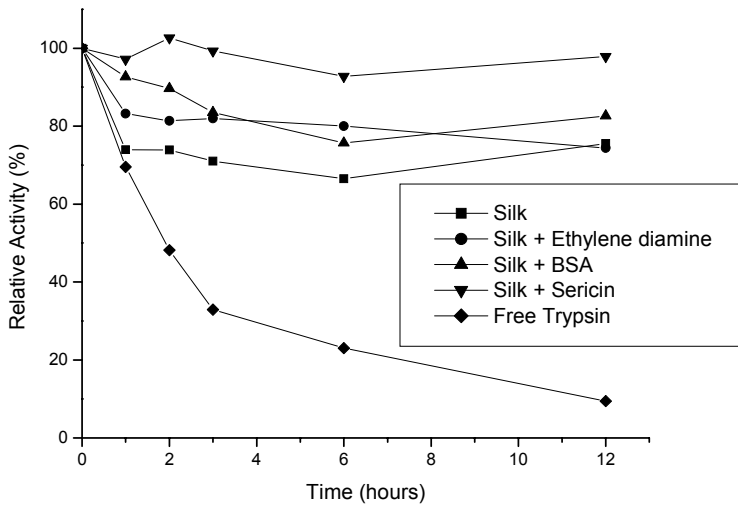


그림 29. 50°C에서의 고정화 효소의 안정성

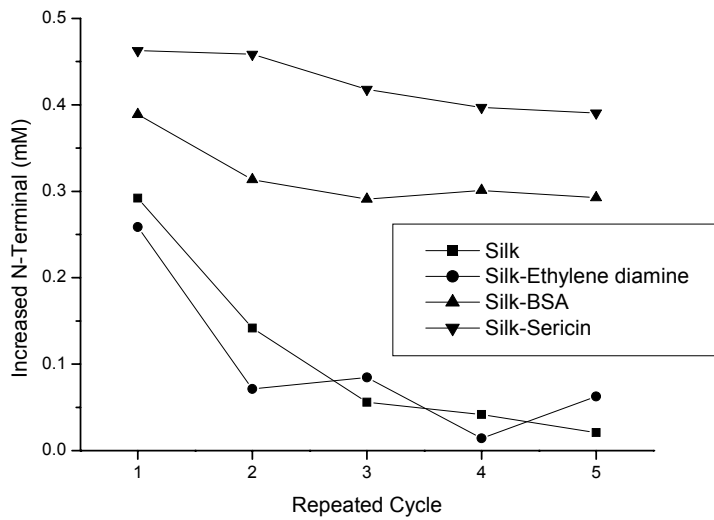


그림 30. 고정화 효소의 반복 이용



#### 다. 세리신 정착사를 이용한 효소의 고정화

앞의 연구의 결과 세리신을 지지체인 섬유와 효소사이에 삽입하는 경우 효소의 활성 및 안정성이 크게 증대되는 것을 확인하였다. 따라서 지지체의 성능을 보다 개선하기 위한 목적으로 원래 피브로인(실크 섬유)을 코팅하고 있는 세리신을 화학적으로 결합시켜 피브로인에 정착시킨 세리신 정착사를 지지체로 활용하는 방안을 검토하였다.

##### 1) 재료 및 방법

정련하지 않은 실크는 세리신의 표면에 남아있다. 따라서 표면의 세리신을 가교시켜 세리신이 피브로인 섬유의 표면에 정착되도록 하였다. 가교는 10% 글루타알데히드 용액으로 시간대별로 실시하였다. 세리신을 피브로인에 정착한 후 앞의 연구방법과 동일한 방법으로 고정화 효소의 성능을 측정하였다.

##### 2) 결과 및 고찰

표 17은 세리신 정착사에 효소를 고정화하는 방법에 따른 효소의 활성을 나타낸 것이다. 세리신 정착사는 글루타알데히드를 가교제로 사용함으로 일부 반응하지 않은 알데히드 작용기들이 남아있다. 따라서 이러한 자유 알데히드기는 효소와 반응하여 효소를 고정하게 된다. 한편 글루타알데히드는 아미노기와 반응하므로 반응에 참여하지 않은 카르복실기는 여전히 활성화된 상태이다. 따라서 이 경우 NHS를 이용하여 카르복실기를 활성화시키면 효소를 고정할 수 있다. 그림 31은 이러한 전체 반응도를 나타낸 것이다.

표 17. 고정화 방법에 따른 효소의 활성화도

Sample ID	Bound protein (mg/g)	Activity ( $\mu\text{mol}/\text{min}$ )	Specific Activity ( $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ )
SFx12	10.6	9.80	30.93
SFx12-NHS	11.1	10.28	30.77

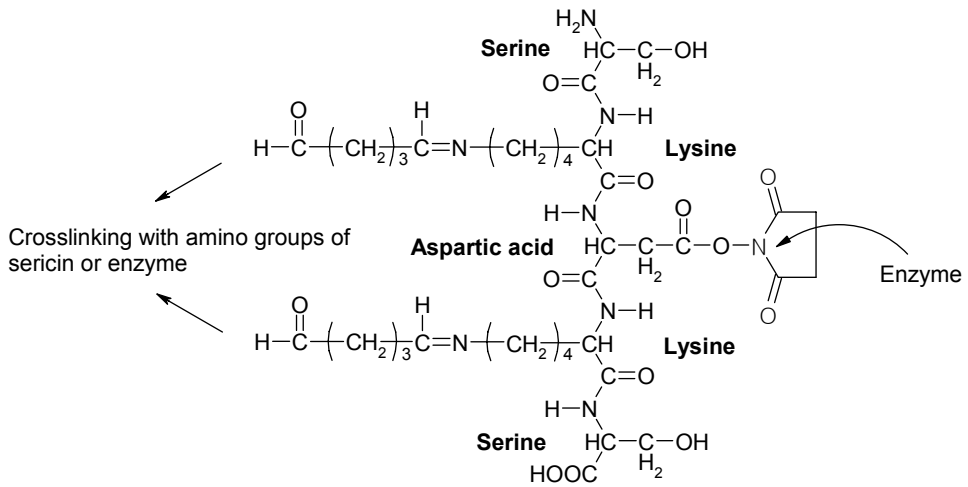
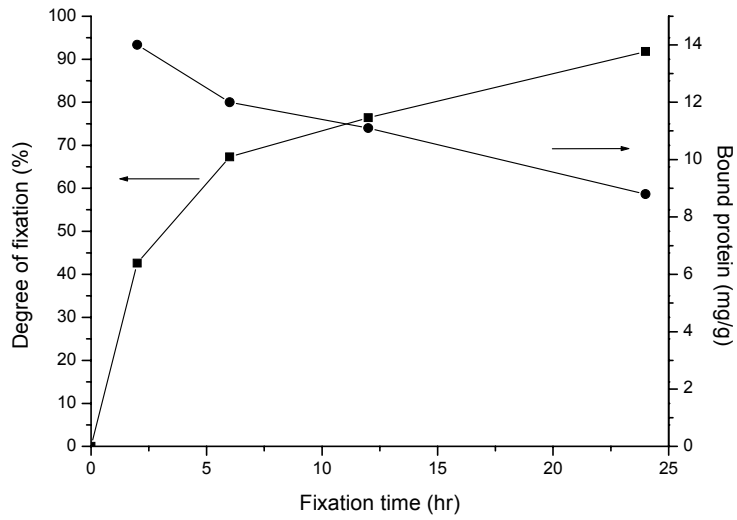


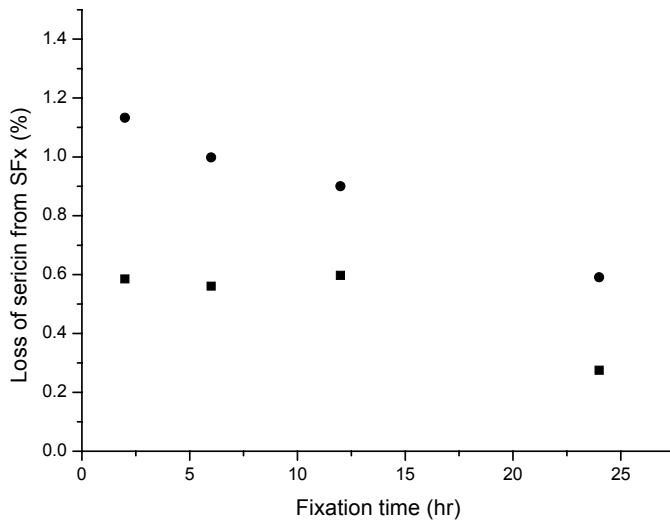
그림 31 전체 반응 도식도

그러나 표 17에서 보듯 각각의 고정화 방법은 결과적으로는 큰 차이가 나지 않았다. 이는 아미노산 분석에서 나타나는 아스파틱산과 글루탐산의 함유량이 실제 함유량과 일치하지 않기 때문이다. 따라서 이후의 실험은 글루타알데히드로 세리신을 정착한 실크 섬유를 별도의 추가적인 공정 없이 바로 효소의 고정화에 이용하였다.

그림 32는 세리신 정착 시간에 따른 효소의 고정화량 및 세리신의 건뢰도를 측정한 것이다. 정착시간이 증가할수록 효소의 고정화량은 감소하였으며 동시에 세리신의 건뢰도는 증가하였다. 이는 정착반응이 시간에 따라 지속적으로 일어나는 것으로 판단되며 이에 따라 자유 알데히드가 감소하는 것으로 생각된다.



(a) 정착시간에 따른 효소의 부착량



(b) 정착시간에 따른 세리신의 견뢰도

그림 32 정착시간에 따른 효소의 부착량과 세리신 견뢰도

표 18은 정착시간에 따른 고정화 효소의 활성도를 측정된 것이다. 고정화 효소의 활성은 일반 실크 섬유에 세리신을 코팅한 연구에 비하여 크게 향상되었다. 정착시간에 따른 고정화 효소의 비활성은 6시간 이후에는 큰 차이를 나타내지 않았다. 따라서 이후의 실험에는 6시간동안 정착한 세리신 정착사를 이용하였다.

그림 33은 6시간 동안 정착한 세리신 정착사를 지지체로 하는 고정화 효소의 안정성을 평가한 것이다. 상온에서의 고정화 효소 안정성은 우수하였지만 50℃에서는 세리신을 코팅한 1년차 연구에 비하여 떨어졌다. 이는 정착이 진행될수록 지지체의 친수성이 감소하여 소수성 결합에 의한 효소의 활성이 저하된 것으로 판단된다.

세리신 정착사를 효소의 고정화 지지체로 활용한 경우 효소의 활성이 증가되었지만 실제 세리신의 가수분해에 있어서는 문제점이 발생하였다. 즉 세리신 정착사에 고정된 효소를 이용하여 실제로 세리신을 분해한 결과 세리신이 세리신 정착사에 흡착되는 문제로 인하여 반복 사용시 활성이 급감하는 현상이 발생하였다. 흡착된 세리신을 제거하기 위하여 세척액에 염을 첨가하여 수세하여 세리신을 제거하였지만 이 경우 효소의 활성이 저하되는 문제점이 발견되었다. 따라서 세리신을 피브로인 섬유(실크)에 정착하여 이용하는 것보다는 세리신을 제거한 후 다시 세리신을 피브로인 섬유에 코팅시키는 것이 바람직하다고 판단된다. 이후의 실험에서는 피브로인 섬유에 세리신을 코팅한 지지체를 이용하여 실험하였다.

표 18 정착시간에 따른 효소의 활성도

Sample ID	Activity ( $\mu\text{mol}/\text{min}$ )	Specific Activity ( $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ )
Free CT	0.89	282.89
SFx2	13.8	32.78
SFx6	15.0	41.67
SFx12	14.5	43.81
SFx24	11.6	43.93

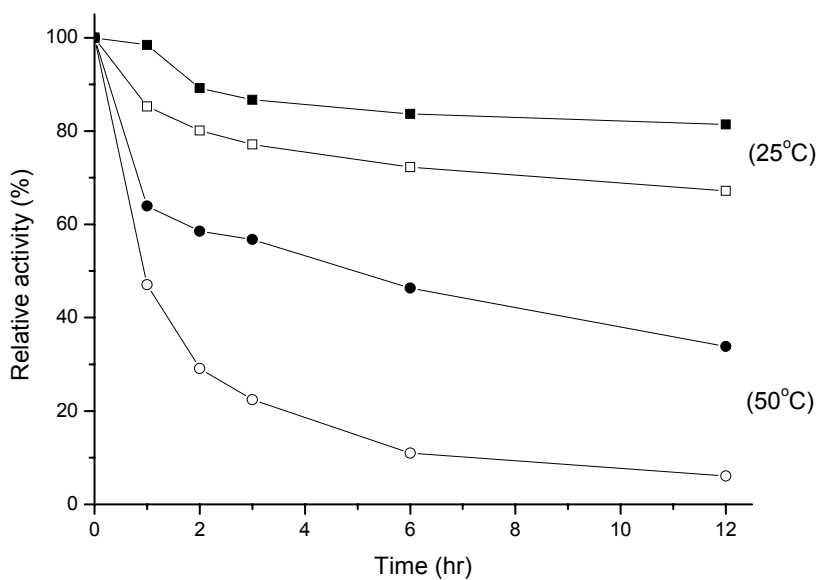


그림 33. 세리신 정착사의 온도에 대한 안정성

## 2. 고정화 효소를 이용한 실크 단백질의 저분자화 및 공정의 최적화

### 가. 반응기의 제작

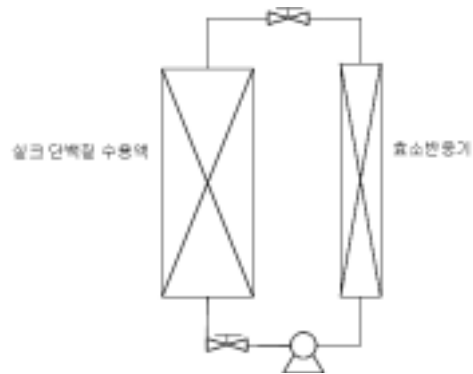
#### 1) 재료 및 방법

효율적으로 저분자 실크 단백질을 생산하기 위해서 선별된 지지체를 이용하여 회분식 및 연속식 반응기와 막결합형 반응기를 제작하고 저분자 실크 단백질을 제조하였다. 그림 34는 각각 회분식 반응기와 연속식 반응기의 도식도이다. 그림 34(a)는 회분식 반응기로 일반 회분식 반응기 대신 연속식 반응기를 응용하여 실크 단백질 용액이 계속적으로 반응기를 통과하게 설계하였다. 그림 34(b)는 막결합형 반응기로 분리막의 분획분자량 이하의 실크 단백질은 반응과 함께 분리되도록 설계하였다. 그림 34(c)와 34(d)는 연속식 반응기로 회분식 반응기의 단점을 극복하고자 하였으며 특히 그림 34(d)의 경우 작용부위가 다른 2종의 효소를 결합하여 효율을 향상시키고자 하였다.

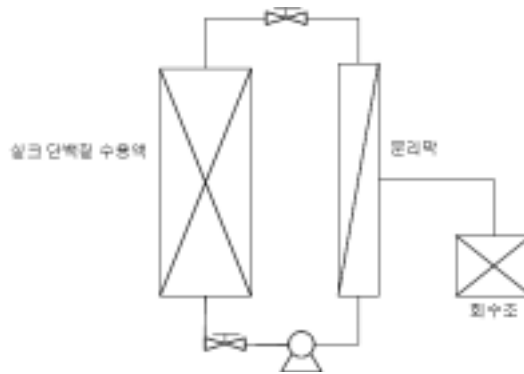
생산되는 저분자 세리신의 양은 고분자량의 세리신을 침전시킨 후 여과 필터로 침전물을 제거하고 남은 수용액 내의 단백질 양을 측정하였으며, 분자량은 SDS 전기영동법에 의하여 측정하였다.

#### 2) 결과 및 고찰

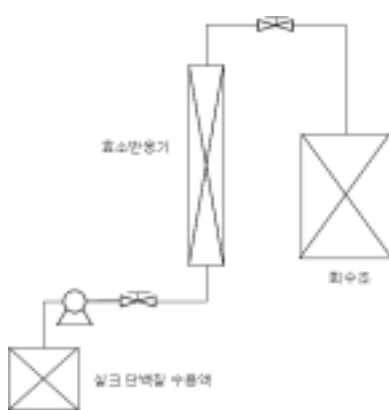
그림 35는 실크 단백질의 효소 가수분해를 위하여 제작한 반응기의 사진이다. 회분식 반응기의 경우 기존의 분리막 시스템에서 분리막을 제거하고 이용하였다(그림 35(a)). 그림 36은 회분식 반응기를 이용하여 시간에 따른 저분자 세리신의 생산량을 나타낸 것이다. 그 결과 6시간의 반응 시간 동안 지속적으로 저분자 세리신이 생산되는 것을 확인할 수 있었다. 특히 그림 37에서 보듯 막결합형 반응기의 경우 지속적으로 저분자 세리신(분자량 3,000이하)이 분리되었으며 효소가 수분해와 물질의 분리를 동시에 진행할 수 있다는 장점이 있다.



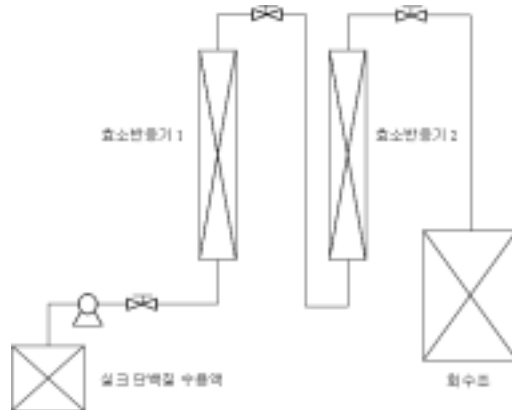
(a) 회분식 반응기



(b) 막결합형 반응기



(c) 연속식 반응기

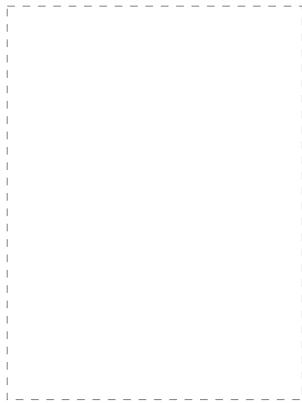


(d) 2종의 효소를 이용한 연속식 반응기

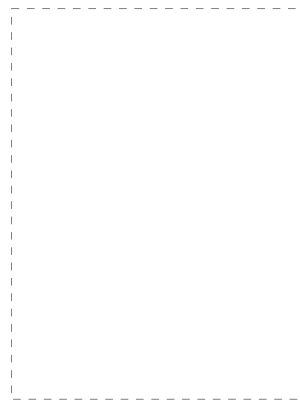
그림 34. 여러 가지 효소분해 반응기의 도식도



(a) 회분식 또는  
막결합형 반응기



(b) 연속식 반응기를  
위한 항온기



(c) 2종의 효소를  
이용한 연속식 반응기

그림 35. 세리신 효소가수분해 장치



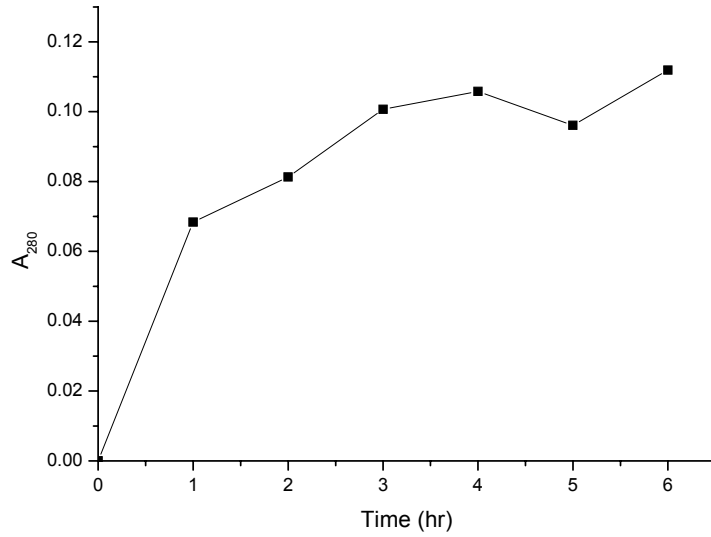


그림 36 회전식 반응기를 이용한 저분자 세리신의 제조

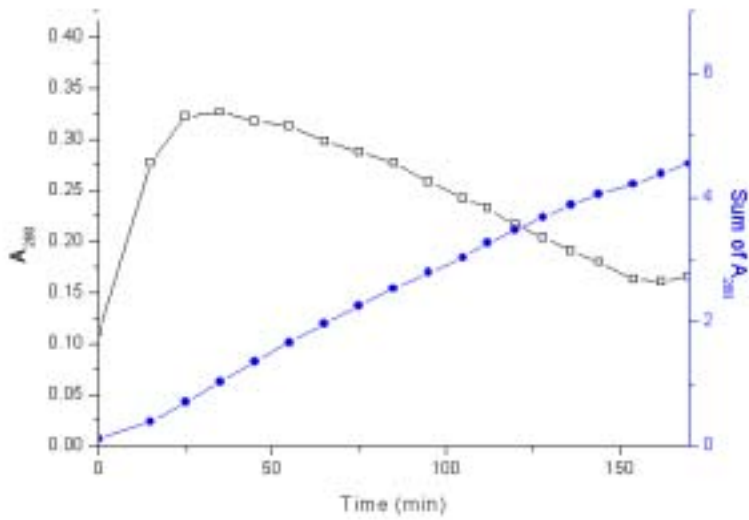


그림 37. 막결합형 반응기에 의한 저분자 세리신의 제조

고온고압 추출 세리신은 분자량이 약 70,000 정도이었으며 고정하지 않은 자유 효소(트립신)에 의한 가수분해 결과 10,000이상 30,000이하로 나타났다. 일반적으로 자유효소의 활성이 고정화 효소보다 좋지만 자가분해로 인한 효소의 활성저하로 장시간 처리가 불가능하다. 본 연구의 경우 자유효소는 1시간 이후에는 효소의 활성이 감소하여 더 이상의 가수분해가 일어나지 않음을 확인하였다. 이에 반하여 고정화 효소의 경우 낮은 활성을 나타내지만 지속적인 반응이 가능하여 세리신의 분자량을 보다 낮출 수 있다. 표 19에서 보듯이 단일 고정화 효소에 의하여 6시간 동안 처리한 결과(SC6, ST6) 세리신의 분자량 10,000 이하로 떨어졌다.

한편 2종의 효소를 사용하는 경우 그 처리시간은 반으로 줄어 2개 이상의 효소를 복합적으로 사용하는 것이 보다 경제적이라고 판단된다. 특히 SCT3의 경우 반응기내에 체류시간을 3시간으로 설정하고 1회 통과시킨 것으로 6시간 동안 반복 통과한 회분식에 비하여 그 효율이 월등하였다.

표 19. 회분식 또는 연속식 반응기에 의한 효소 가수분해 세리신의 분자량

Sample	Retention Time (hr)	MW
Sericin	-	30,000 ~ 100,000
Free Enzyme	1	10,000 ~ 30,000
SC6 (Batch type)	6	Less than 10,000
ST6 (Batch type)	6	Less than 10,000
SCT3 (Continuous type)	3	Less than 10,000

## 나. 나노복합막을 지지체로 효소 고정화 반응기

### 1) 재료 및 방법

#### 가) 나노복합막의 제조

투과유량이 높은 나노복합막을 개발하기 위하여 계면중합법을 사용하였다. 계면중합 코팅을 위한 지지체를 제조하기 위하여 고분자로서 폴리술폰 (PSf)을 용매로는 DMF를 비용매로는 methyl cellosolve (MC)와 PEG 600을 사용하였다. 조성은 PSf/DMF/MC/PEG 600 (20/50/20/10wt%)이었으며 분획분자량은 약 50kDa 이었다.

수용액은 piperazine과 acid acceptor로서 triethylamine (TEA)을, 유기용액으로는 isoparaffin 내에 trimesoyl chloride를 사용하였다. 먼저 지지체를 수용액에 약 1분간 침지시킨 후 고무롤러 (그림 38)로 압착하여 표면에 묻은 용액을 완전히 제거한 후 유기용액에 1분간 침지시켜서 반응을 완료하였다. 수용액과 유기용액의 조성을 변화시킴으로서 분획분자량을 조절하였다.

Piperazine/TEA (0.1/0.05wt%)와 TMC (0.005wt%)를 사용하여 제조할 경우 분획분자량 약 3kDa의 분리막이 제조된다. 폴리아미드막의 표면의 반응기를 형성시키기 위하여 염산을 처리함으로서 약간의 가수분해를 시켜서 효소를 고정화하였다.

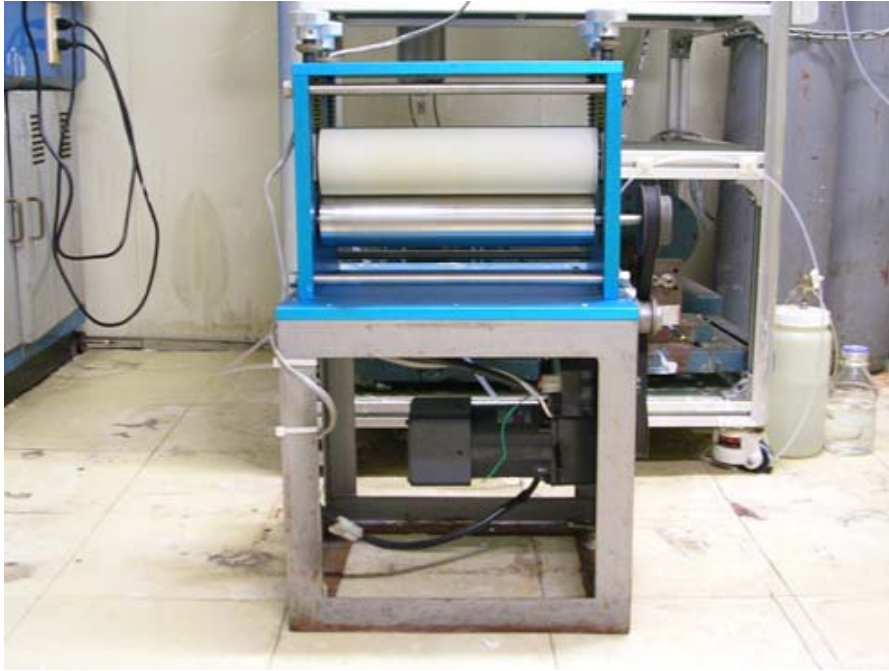


그림 38. 계면중합을 위한 고무롤러.

#### 나) 나노복합막 표면의 효소 고정화

효소 (트립신)의 온도 및 보관 안정성을 증가시키기 위하여 분리막 표면에 효소를 고정화하였다. 효소의 반응성을 향상시키기 위하여 chain extender로서 polyethyleneimine과 ethylenediamine을 사용하였다.

고정화과정은 먼저 폴리아미드막의 표면을 가수분해시킨 후 형성된 아민그룹과 glutaraldehyde (GA)를 반응시키고 다시 chain extender와 GA을 연속반응 후 효소를 마지막으로 처리하여 표면에 효소를 활성화시켰다.

반응성을 보기 위하여 효소가 가수분해하기 위한 기질로서 N-benzoyl-DL-arginine-p-nitroanilide hydrochloride (BAPNA)을 사용하여 노란색으로 변색시킨 후 UV-Vis spectrophotometer로 405nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### 2) 결과 및 고찰

그림 39는 고정화된 효소의 온도에 따른 안정성을 살펴본 것이다. 고정화된 효소의 안정성이 크게 향상된 것을 확인할 수 있다. 실제 효소고정화된 분리막의

세리신 가수분해 안정성 (막오염)을 살펴보기 위하여 세리신 용액의 투과실험을 하였다. 투과실험을 위한 투과장치를 그림 40에 나타내었다. 그림 41은 효소고정화 분리막의 막오염도를 살펴본 것이다. 효소가 고정화되지 않은 분리막의 경우는 세리신에 의해서 막오염이 심하게 발생하여 투과유량이 급격히 감소하는 반면, 효소가 고정화된 분리막의 경우는 세리신이 분리막 표면에 고정화된 효소에 의해서 분해되어 부착능이 감소함으로서 막오염이 심하게 발생하지 않았다.

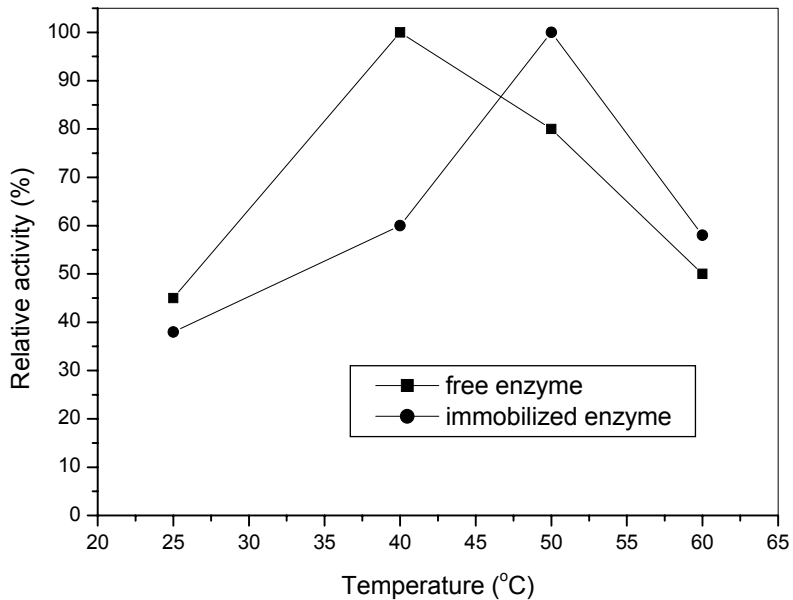


그림 39. 고정화 효소의 온도안정성.



그림 40. 효소고정화 분리막의 투과실험장치

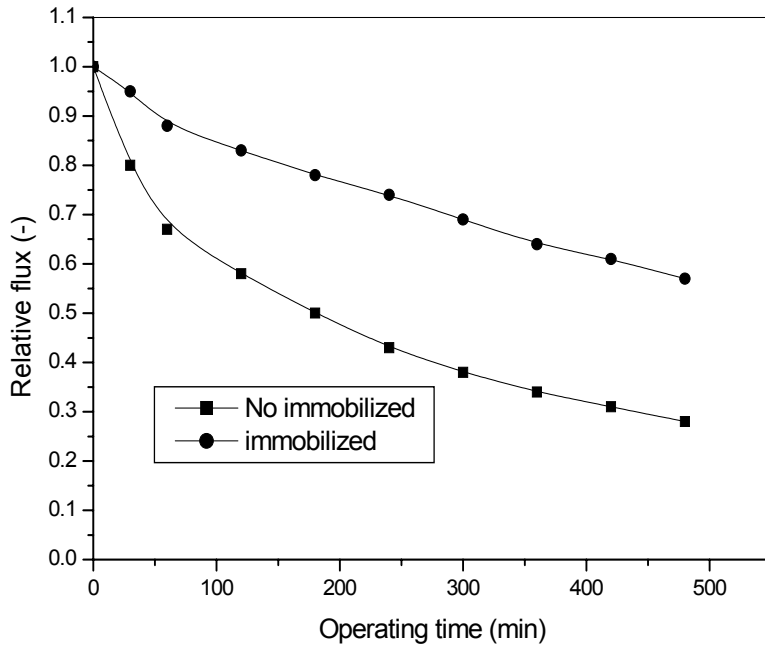


그림 41. 효소고정화 분리막의 막오염도.

## 5절. 분리막을 이용한 실크 세리신의 농축공정 개발

단백질의 분리를 위한 많은 연구가 진행이 되었지만 대부분 막오염 현상으로 인하여 효율이 크게 감소하게 된다. 이의 해결을 위하여 분리막 표면의 친수화 등의 방법을 도입하였지만 크게 좋아지지 않는 결과들을 볼 수 있다. 본 연구에서는 기존의 방법에서 벗어나서 분리막 공정을 크게 변화시킴으로서 막오염 문제를 해결하고자 하였다.

### 1. 단백질 농축 공정의 개발

#### 가. 재료 및 방법

일반적으로 상온에서 분리막을 사용하여 단백질을 분리할 경우 막 표면에 케이크 층을 형성하는 막오염이 순간적으로 발생하여 투과유량이 크게 감소하게 된다. 막오염의 발생을 억제시키기 위하여 분리막 표면쪽으로 공기를 주입시킴으로서 케이크 층의 퇴적 현상을 최소화시키려 하였다. 그러나 단백질은 상온에서 공기 접촉시 거품이 발생하여 상온에서는 공기 주입이 불가능하였다. 세리신 단백질은 높은 온도 (40 - 60℃) 범위에서 크게 단백질 변성이 일어나지 않아서 온도를 높임으로서 거품 발생을 억제시킬 수 있었다.

그림 42는 분리막을 이용하여 세리신 용액을 농축하기 위한 농축공정도이다. 농축공정에서 단백질의 분리막 표면으로의 쌓이는 현상을 막기 위하여 막 표면에 공기를 이용하여 표면의 농도분극층을 최소화하였다. 또한 연속운전이 아닌 간헐적으로 운전과 비운전을 번갈아가면서 농축함으로써 비운전시 표면에 쌓였던 오염물질의 탈착이 일어나도록 고안하였다. 농축온도는 실제 정련공정에서 실행되는 50℃로 고정하였다.

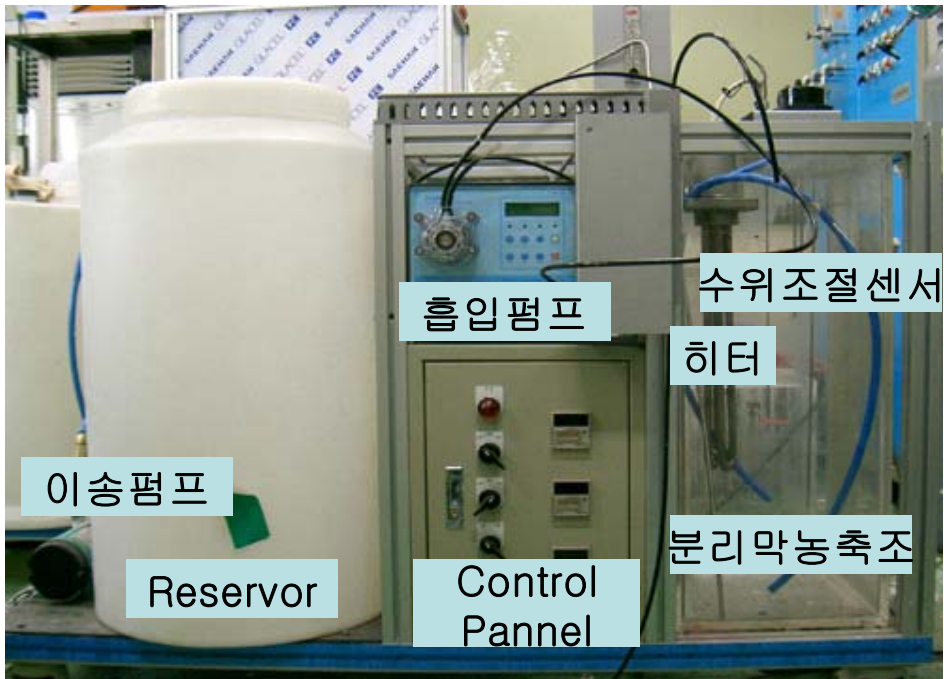


그림 42. Suction법에 의한 실제 농축공정도.



## 나. 결과 및 고찰

### 1) 농축공정의 우수성

일반적으로 분리막을 이용한 단백질 농축공정에서 사용되는 공정은 펌프를 이용하여 분리막 모듈로 이동시키고 분리막 모듈 내에서 농축이 일어나도록 한다. 그러한 경우 단백질이 분리막 표면을 오염시켜 투과유량이 급격하게 저하된다. 즉, 연속적으로 농축을 행하기 위해서는 분리막 세척을 자주하여 운전효율을 높여야 하므로 비경제적이고 투과속도를 높이기 위해서 운전압력을 높여야 하므로 문제점이 많이 따른다. 또한 세리신과 같은 천연단백질은 펌프의 회전에 의하여 변성이 쉽게 일어나므로 사용에 제한이 따르게 된다.

그림 43은 위에서 설명한 일반적인 가압법과 본 연구의 새로운 농축법의 막 오염도를 비교한 것이다. Cross-flow 농축법은 세리신 용액을 펌프로 이동시켜서 분리막 모듈 내에서 농축이 일어나도록 한 것이다. 운전시간에 따라 투과유량이 급격히 감소하는 것을 볼 수 있지만 suction 농축법은 cross-flow 농축법에 비해서 투과유량 감소율이 크지 않은 것을 볼 수 있다. 즉, 막표면에서 공기방울에 의해서 막오염을 일으키는 단백질이 부착되지 않기 때문이다. 본 연구의 농축방법에 의해서 세리신 단백질뿐만 아니라 모든 농축공정뿐만 아니라 단백질 분리에서도 유용하게 사용이 될 수 있다.

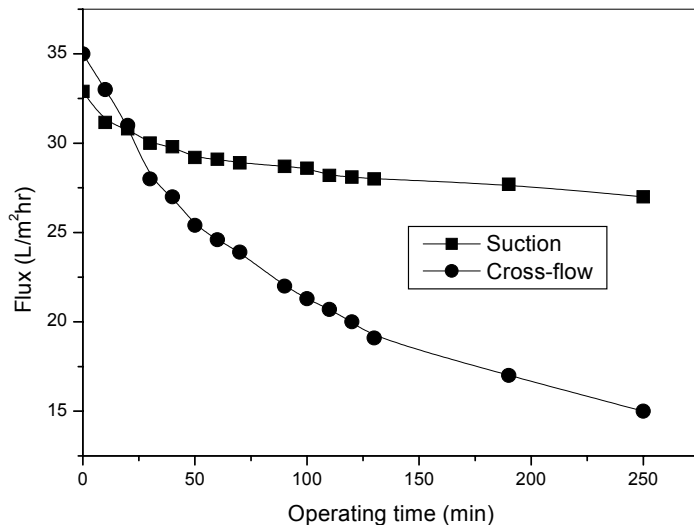


그림 43. suction법과 cross-flow 농축법의 막오염 비교.

## 2) Suction 농축법의 운전변수에 의한 막오염

### 가) Aeration 유무에 의한 막오염

Cross-flow 농축법에 비해서 suction 농축법은 운전효율이 월등히 향상되었으며 suction 농축법의 여러 가지 운전변수를 변화시킴으로서 운전효율을 향상시킬 수 있다.

그림 44는 세리신 단백질 용액의 온도와 aeration 유무에 의한 막오염 현상을 나타낸 것이다. 상온에서 aeration없이 suction 법에 의해서 농축을 실행할 경우 투과속도가 급격히 감소하는 것을 확인할 수 있고 50°C에서 aeration없이 suction 법에 의해서 농축을 실행할 경우 aeration을 같이 병행하면서 농축을 실행하는 경우에 비해서 막오염이 심하게 발생하는 것을 알 수 있다. 즉, 막표면에서 aeration을 실시함으로써 막오염을 크게 감소시킬 수 있는 것이다. 250분이 경과 하더라도 막오염이 거의 발생하지 않을 정도로 막오염 측면에서 매우 유용한 것을 확인할 수 있다.

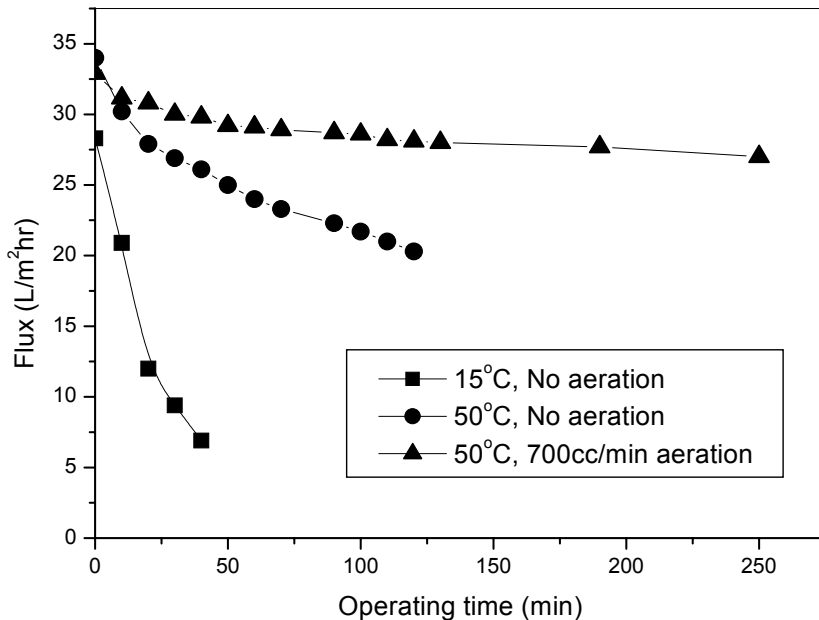


그림 44. Suction 농축법의 운전변수 (온도, aeration)에 따른 막오염.

나) 간헐적 운전에 의한 막오염

그림 45는 suction 농축법에 의해서 농축할 경우 연속적으로 운전하는 방법과 간헐적으로 운전하는 방법의 막오염에 미치는 영향을 살펴본 것이다.

Suction 농축법에 의해서 sericin 단백질용액을 농축할 경우 연속적 운전에 의해서 운전하면 비록 aeration을 하더라도 막표면에서 단백질에 의한 막오염이 발생하게 된다.

연속적으로 suction에 의해서 농축을 실행할 경우 장기간 운전시 막오염이 발생하는 것을 알 수 있다. 그러나 간헐적 운전 (9분 운전, 1분 휴지: 8분 운전, 2분 휴지)에 의해서 휴지기간을 연장할수록 막오염이 적게 일어나는 것을 확인할 수 있다. 즉, 연속적 운전에 의해서 aeration을 하더라도 막 표면에 세리신의 흡착이 과량 일어나지만 간헐적으로 휴지기간을 두므로서 휴지기간동안 공기방울에 의해서 표면에 흡착된 세리신 단백질이 탈착되는 것이다. 본 연구에서는 8분운전과 2분 휴지의 간헐적 운전에 의해서 막표면에 막오염이 거의 일어나지 않는 것을 확인할 수 있다. 막오염이 발생하지 않으므로 장기간 세리신 농축이 가능하며 분리막 세척이 거의 필요하지 않다. 즉, 분리막 세척에 의한 2차 오염문제 뿐만 아니라 운전효율도 극대화할 수 있다.

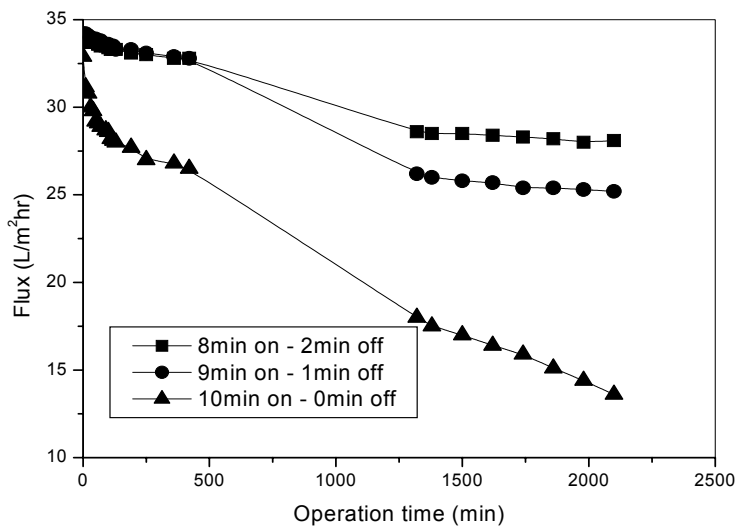


그림 45. 연속적 운전과 간헐적 운전의 막오염에 미치는 영향

## 2. 세리신 농축을 위한 중공사 분리막 제조

### 가. 재료 및 방법

#### 1) 세리신 농축

세리신 단백질 용액의 농축을 위하여 실크 종이 생산 시 발생하는 세리신 폐액을 농축용 용액으로 사용하였다. 생산된 단백질 용액의 농도를 측정하기 위하여 UV-VIS spectrophotometer를 사용하였으며 파장은 280nm에서 측정하였고 10배 이상 희석하여 세리신 용액의 농도를 측정하였다. 실제 정련시 세리신 용액의 온도는 50℃로서 이 후 모든 농축공정은 50℃로 고정하여 실행하였다. 펌프 가동시간 8분, 정지시간 2분으로 고정하여 운전하였다. 농축은 세리신이 고형화되기 전까지 실시하였다. 막오염을 제어하기 위한 폭기량은 70cc/min으로 고정하여 실시하였다.

#### 2) 중공사 분리막의 제조

세리신 용액의 분자량은 수만에서 수십만이므로 농축에 사용된 분리막은 분획 분자량이 7만 정도 되는 한외여과막으로서 투과유량이 큰 분리막을 제조하여 사용하였다. 분리막은 본 연구원(한국화학연구원)에서 연속 생산이 가능하므로 제조된 분리막으로 분리막 모듈을 제작하여 농축을 실행하였다. 그림 46은 본 연구에서 농축에 사용된 분리막의 생산을 위한 방사장치를 나타낸 것이다.

PAN 고분자 용액을 reservoir에 보관한 후 기어펌프로 노즐로 이송시킨다. 내부의 bore를 형성시키기 위하여 내부응고조에서 정량펌프를 이용하여 응고를 시키면서 외부응고욕으로 전달시키면 중공사 분리막이 형성되고 연속적 생산을 위하여 권취조에서 연속적으로 권취하여 최종적으로 용매를 제거함으로써 생산공정이 완료된다.

#### 3) 한외여과막의 제조

고분자는 폴리아크릴로니트릴(PAN)을 사용하고 용매로는 dimethylformamide (DMF)을 사용하였다. 첨가제로는 triethylphosphate (TEP)와 poly(ethylene glycol) 600 (PEG 600)을 사용하였다.

TEP는 중공사 분리막의 단면구조를 스폰지 구조로 형성시키기 위한 첨가제로 사용되고 PEG 600은 기공형성제로 사용된다.



(a)



(b)



(c)

그림 46. 분리막 생산장치.

(a) 고분자 용액 수송펌프 (b) 방사노즐 (c) 응고조 및 권취조

## 나. 결과 및 고찰

### 1) 한외여과막

최적의 고분자 용액의 조성비는 PAN/DMF/TEP/PEG 600 (22/58/20/10wt%)이었다. 1기압에서 PEG 35000의 1000ppm 수액액을 이용한 투과실험을 수행한 결과, 투과유속은  $250\text{L}/\text{m}^2\text{hr}$ 이고 HPLC로 배제율을 실행한 결과 50%의 배제율을 나타내었다. 본 연구에서 제조된 한외여과막의 단면사진을 그림 47에 나타내었다.

일반적으로 비닐계 고분자를 이용하여 분리막을 제조할 경우 분리막 표면에 macrovoid가 심하게 생성되어 시간에 따른 압밀화 현상이 발생하여 투과유량이 급격히 감소하거나 분리막 표면의 defect가 발생할 확률이 크게 존재한다. 즉 고분자 용액 내에 macrovoid를 줄일 수 있는 적당한 첨가제가 필요하다. 본 연구에서는 여러 종류의 첨가제 중에서 triethylphosphate를 사용하여 macrovoid를 크게 줄일 수 있었다.

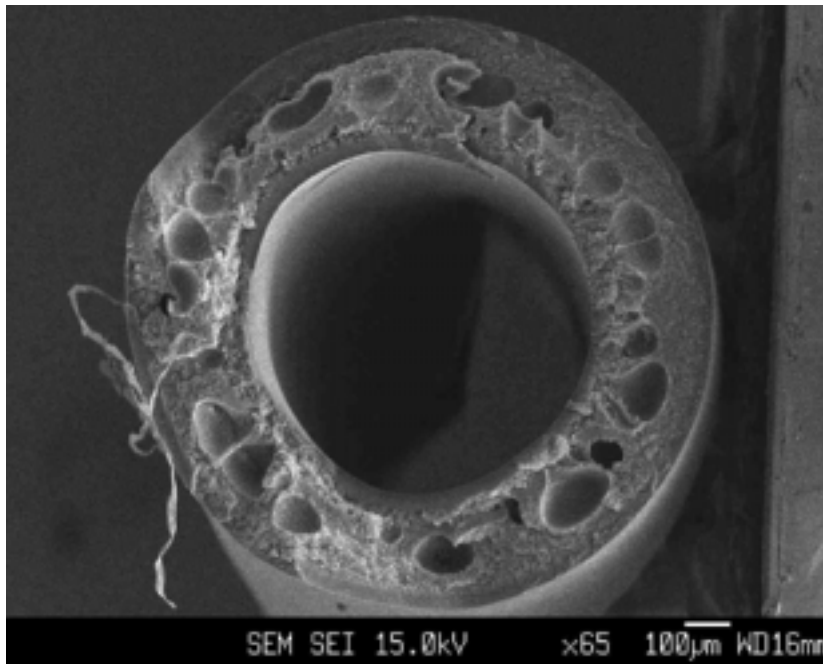


그림 47. 제조된 한외여과막의 단면 전자현미경 사진.

## 2) 단백질에 의한 막오염을 해결한 농축공정

그림 48은 중공사 분리막모듈을 이용하여 세리신 용액을 농축하기 위한 분리막 모듈을 나타낸 것이다. 농축공정에서 단백질의 분리막 표면으로의 쌓이는 현상을 막기 위하여 막 표면에 공기를 이용하여 표면의 농도분극층을 최소화하였다. 또한 연속운전이 아닌 간헐적으로 운전과 비운전을 번갈아가면서 농축함으로써 비운전시 표면에 쌓였던 오염물질의 탈착이 일어나도록 고안하였다. 농축온도는 실제 정련공정에서 실행되는 50℃로 고정하였다.

앞서 평막을 이용한 단백질 농축공정에 대하여 보고하였으며 분리막 면적을 높임으로서 생산량을 증가시키기 위하여 중공사 모듈을 사용하였고 농축공정은 흡입공정과 폭기를 이용한 막오염 감소 방법을 채택하였다.



그림 48. 중공사 분리막 모듈.

그림 49는 이러한 공정을 이용한 투과유량에 대한 결과를 나타낸 것이다. 일반적으로 분리막을 이용한 단백질 농축공정에서 사용되는 공정은 펌프를 이용하여 분리막 모듈로 이동시키고 분리막 모듈 내에서 농축이 일어나도록 한다.

농축배율을 2.5배 이상 할 경우 세리신 용액의 고형화가 발생하므로 2.5배에서 농축운전을 정지하였으며 분리막 투과유량은 안정적으로 큰 감소없이 농축이 가능하였다.

중공사모듈을 이용한 연속적인 농축공정도는 그림 42와 같은 공정도를 사용하였다.

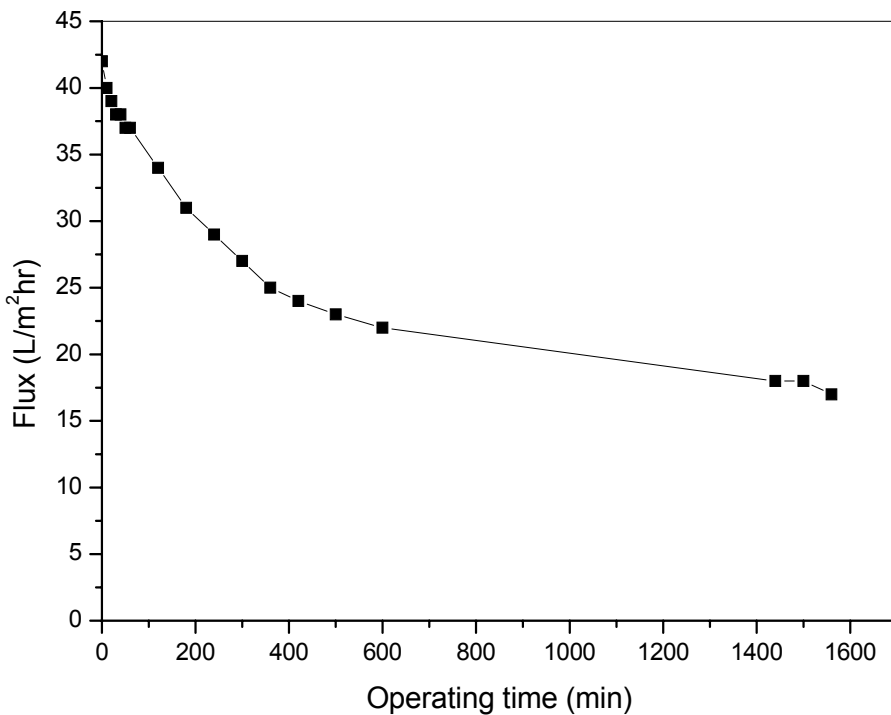


그림 49. 중공사 분리막모듈을 이용한 농축.



### 3. 저분자 펩티드 분리용 나노복합막 개발

개발된 효소가수분해 생성물인 세리신 저분자 펩티드의 농축 효율을 증가시키기 위하여 나노복합막의 투과유량을 증가시키고 저분자 펩티드의 농축시 분리막 표면에서의 막오염을 감소시키기 위하여 표면을 친수성이면서 중성인 고분자로 코팅하였다.

앞서 복합막 제조를 위한 폴리술폰 지지체는 투과유량을 높이기 위하여 고분자 용액 내에 첨가제를 사용하였다. 그러나 첨가제를 사용함으로써 고분자 용액의 부직포와의 접착능이 감소하여 분리막이 부직포에서 탈리되는 현상이 발생하여 고분자 용액내에 용매 이외의 다른 첨가제는 사용하지 않았다. 대신 투과능을 높이기 위하여 응고조의 물의 온도를 상승시켰다.

#### 가. 나노복합막의 개발

##### 1) 재료 및 방법

계면중합 코팅을 위한 지지체를 제조하기 위하여 고분자로서 폴리술폰 (PSf)을 용매로는 DMF를 사용하였다. 조성은 PSf/DMF (18/82 wt%)이었으며 고분자용액의 온도는 25℃이었다. 응고욕은 35℃의 물을 사용하였다. 25℃, 60%의 조건에서 도포두께는 180미크론이었으며 응고욕에 침지하기 전 노출시간은 5초로 고정하였다. 최종 용매를 제거하기 위하여 80℃ 물에서 1시간 노출하여 용매를 완전히 제거하였다. 최종 지지체의 분획분자량은 약 50kDa이었다.

복합막의 제조방법은 먼저 아민이 함유된 수용액에 한외여과막 지지체를 일정 시간 침지시키고 꺼낸 후 표면에 남아있는 여분의 아민을 고무롤러로 완전히 제거한 후 isoparaffin에 녹인 TMC 용액에 일정시간 침지시켜서 계면중합을 유도한 후 일정 시간 건조하여 반응을 마무리한다. 수용액은 piperazine과 acid acceptor로서 triethylamine (TEA)을 기본으로 하고 친수성 고분자를 첨가하였다. 일반적으로 계면중합에 사용되는 아민으로는 piperazine과 m-phenylene diamine (MPD)을 사용하며 MPD를 사용할 경우 수용액에 친수성 고분자를 첨가하지 않더라도 복합막의 성능이 나온다. 그러나 piperazine을 사용할 경우 친수성 고분자를 첨가하지 않을 경우 복합막의 성능이 나오지 않는다. 하지만 MPD를 사용할 경우 높은 투과유량을 갖는 나노복합막을 제조하기가 힘들고 분획분자량을 낮추기도 힘들다.

## 2) 결과 및 고찰

제조된 한외여과 분리막 지지체의 단면사진을 그림 50에 나타내었다. 실제 분리층인 표면에는 macrovoid가 존재하지 않고 중간 부분에 존재하는 것으로 보아 압력에 대한 압밀화 현상이 적고 defect가 적을 것으로 사료된다.

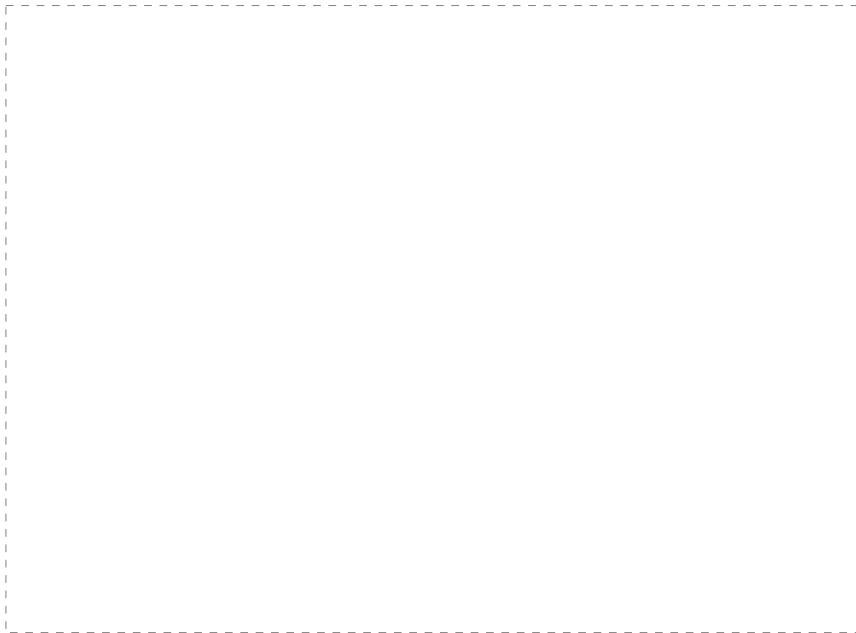


그림 50. 한외여과막 지지체의 단면사진.

표 20에 MPD와 piperazine을 사용할 경우 성능을 비교한 것이다. 수용액 모두 친수성 고분자를 첨가하지 않았다. 표 20에서 MPD 용액은 높은 제거율을 보이지만 piperazine 용액은 낮은 제거율을 보인다. MPD가 piperazine보다 분자 구조상으로 볼 때 친수성이고 용액 상에서 소수성 지지체에 흡착능이 높아서 piperazine 용액보다 defect가 적은 것으로 사료된다.

표 20. 아민 종류에 따른 복합막 성능

아민	투과유량 (m <sup>3</sup> /m <sup>2</sup> day)	제거율 (%)
piperazine	1.4	85.3
MPD	0.3	98.8

테스트 용액, MgSO<sub>4</sub> 2000ppm 수용액; 테스트 압력, 225psi; 유량, 3.0L/min; 30분 운전 후 측정 amine/TEA (2/1wt%); TMC 0.1wt%

25도 60%; 아민 용액 침지시간, 1분; TMC 용액 침지시간, 1분; 상온 건조시간, 10분

이러한 piperazine의 낮은 투과성능을 보완하기 위하여 piperazine 수용액에 친수성 고분자를 첨가하였다. 친수성 고분자로는 polyvinylpyrrolidone (PVP) 10000, 40000, 360000, polyethylene glycol (PEG) 10000, 35000, 100000, polyvinylalcohol (PVA) 10000, 40000, 88000, 250000, polyethyleneimine (PEI) 350000, sodium alginate (SA) 200000, hydroxypropylcellulose (HPC) 360000, polystyrenesulfonate (PSS) 200000, polyacrylic acid (PAA) 500000 등을 사용하였다. 특히 PVA의 경우 deacetylation degree가 상이한 종류들을 사용하였다. deacetylation degree가 99%, 88% 두 종류를 사용하였다.

표 21은 친수성 고분자 종류에 따른 복합막의 성능을 나타낸 것이다. 표 21의 결과 본 연구에서는 다양한 친수성 고분자 중에서 PVA를 사용하였고 그 중에서도 deacetylation degree가 88%이며 분자량이 88000인 종류를 사용하였다.

표 21. 친수성 고분자 종류에 따른 투과성능

친수성 고분자	투과유량 (m <sup>3</sup> /m <sup>2</sup> day)	제거율 (%)
PVP 10000	1.78	98.8
PVP 40000	2.25	91
PVP 360000	2.32	87
PEG 10000	1.45	94
PEG 35000	1.82	97
PEG 100000	1.92	91
PVA 99% 10000	2.01	99.0
PVA 99% 40000	2.13	98.9
PVA 99% 88000	2.32	98
PVA 99% 250000	2.14	96
PVA 88% 10000	2.32	99.0
PVA 88% 40000	2.41	98.9
PVA 88% 88000	2.82	98.7
PVA 88% 25000	2.87	97.3
PEI 350000	2.52	96.9
SA 200000	1.23	94
HPC 360000	2.13	96.1
PSS 200000	0.92	95.8
PAA 500000	1.80	98.1

테스트 용액, MgSO<sub>4</sub> 2000ppm 수용액; 테스트 압력, 225psi; 유량, 3.0L/min; 30분 운전 후 측정 amine/TEA (2/1wt%); TMC 0.1wt%; 친수성 고분자 1wt%

25도 60%; 아민 용액 침지시간, 1분; TMC 용액 침지시간, 1분; 상온 건조시간, 10분

투과유량을 증가시키기 위하여 piperazine의 농도와 친수성 고분자의 농도 및 TMC 용액 내에서의 반응시간을 조절하였다. 표 22는 piperazine의 농도를 조절 한 결과이다.

표 23은 piperazine 농도를 1wt%로 하고 친수성 고분자의 농도를 변화시킨 것이다. PVA 농도가 적을 경우에는 폴리술폰 지지체의 친수화가 작아져서 성능이 떨어지고 PVA 농도가 너무 높을 경우에는 계면중합을 방해하는 결과를 초래한다.

표 24는 piperazine의 농도를 1wt%, 친수성 고분자의 농도를 1wt%로 고정하고 TMC 용액 내에서의 반응시간을 조절한 것이다. TMC 용액 내에서의 반응시간이 길어질수록 투과유량이 낮아지고 제거율이 높아지는 결과를 보였다. 일반적으로 piperazine은 MPD에 비해서 반응속도가 빠른 것으로 알려져 있다. 순간적으로 반응이 진행되므로 piperazine을 사용할 경우 TMC 용액 내에서의 반응시간을 줄일 필요가 있다. 반응시간을 증가시킬 경우 부반응 즉 가교결합이 진행되어 투과유량을 감소시키는 결과를 초래하는 것으로 사료된다.

세리신의 가수분해 산물인 올리고펩타이드의 평균 분자량은 약 3000으로서 분획분자량이 3000 정도 되는 복합막을 사용할 경우 투과유량이 매우 높고 생산효율을 크게 향상시킬 수 있다. 본 연구에서는 piperazine의 농도를 변화시키면서 분획분자량을 측정하였다. 표 25는 그 결과를 나타낸 것이며 테스트를 위한 피드 용액은 polyethylene glycol 200, 400, 1000, 2000 및 3000을 사용하였고 농도는 1000ppm으로 유지하였으며 분석은 HPLC로 측정하였다.

표 22. piperazine 농도변화에 따른 투과성능

piperazine 농도 (wt%)	투과유량 (m <sup>3</sup> /m <sup>2</sup> day)	제거율 (%)
2	2.82	98.7
1	3.27	98.5
0.5	3.85	97.3
0.1	4.23	95.1

테스트 용액, MgSO<sub>4</sub> 2000ppm 수용액; 테스트 압력, 225psi; 유량, 3.0L/min; 30분 운전 후 측정  
TEA, piperazine의 50%; TMC, piperazine의 5%; 친수성 고분자 1wt%  
25도 60%; 아민 용액 침지시간, 1분; TMC 용액 침지시간, 1분; 상온 건조시간, 10분

표 23. 친수성 고분자 농도변화에 따른 투과성능

PVA 농도 (wt%)	투과유량 (m <sup>3</sup> /m <sup>2</sup> day)	제거율 (%)
0.5	2.98	97.8
1	3.27	98.5
1.5	3.30	98.1
2	4.26	93.8

테스트 용액, MgSO<sub>4</sub> 2000ppm 수용액; 테스트 압력, 225psi; 유량, 3.0L/min; 30분 운전 후 측정  
TEA, piperazine의 50%; TMC, piperazine의 5%  
25도 60%; 아민 용액 침지시간, 1분; TMC 용액 침지시간, 1분; 상온 건조시간, 10분

표 24. TMC 용액 내에서의 반응시간에 따른 성능비교

TMC 용액 반응시간 (sec)	투과유량 (m <sup>3</sup> /m <sup>2</sup> day)	제거율 (%)
10	3.62	98.0
20	3.45	98.1
30	3.35	98.3
60	3.27	98.5

테스트 용액, MgSO<sub>4</sub> 2000ppm 수용액; 테스트 압력, 225psi; 유량, 3.0L/min; 30분 운전 후 측정  
 piperazine/TEA (1/0.5wt%); TMC, 0.05%  
 25도 60%; 아민 용액 침지시간, 1분; 상온 건조시간, 10분

표 25. Piperazine 농도변화에 따른 투과유량 및 분획분자량 변화

piperazine 농도 (wt%)	투과유량 (m <sup>3</sup> /m <sup>2</sup> day)	분획분자량 (Da)
2	3.16	300
1	4.14	500
0.5	4.68	1000
0.1	5.65	3000
0.01	6.90	5000

테스트 용액, PEG 1000ppm 수용액; 테스트 압력, 225psi; 유량, 3.0L/min; 30분 운전 후 측정  
 TEA, piperazine의 50%; TMC, piperazine의 5%  
 25도 60%; 아민 용액 침지시간, 1분; TMC 용액 침지시간, 10초; 상온 건조시간, 10분

제조된 한외여과 복합막의 표면사진을 그림 51에 나타내었다. Piperazine을 사용했을 때 전형적으로 나타나는 거북이 등껍질 같은 형태의 모습을 보이고 있다.

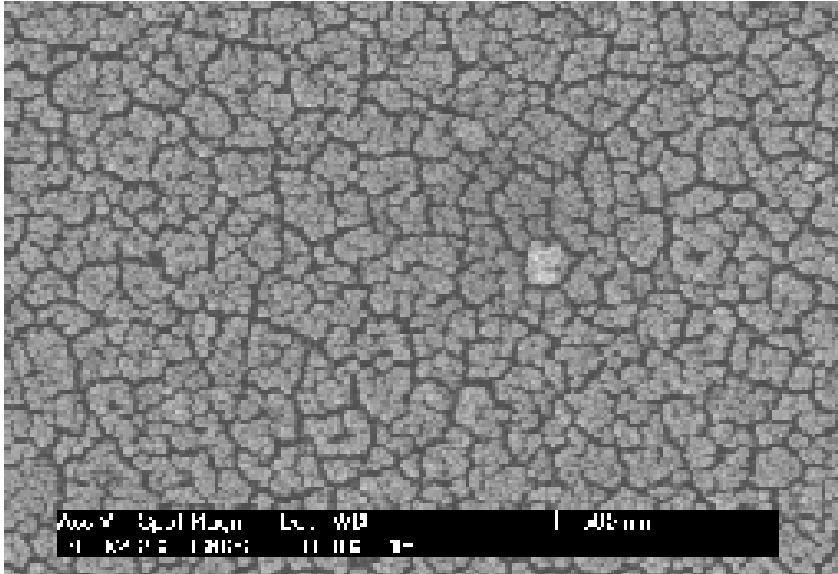


그림 51. 한외여과 복합막의 표면사진.

제조된 분획분자량 3000의 한외여과 복합막을 이용하여 실제 생산된 올리고캡타이드 용액을 농축하였다. 테스트 압력은 3차 증류수를 이용하여 투과유량이  $1\text{m}^3/\text{m}^2\text{day}$ 가 측정되는 압력을 먼저 구하고 그 압력으로 테스트를 하였으며 유량은  $3.0\text{L}/\text{min}$ 으로 조절하였다. 그림 52는 투과유량의 데이터를 나타낸 것이다.



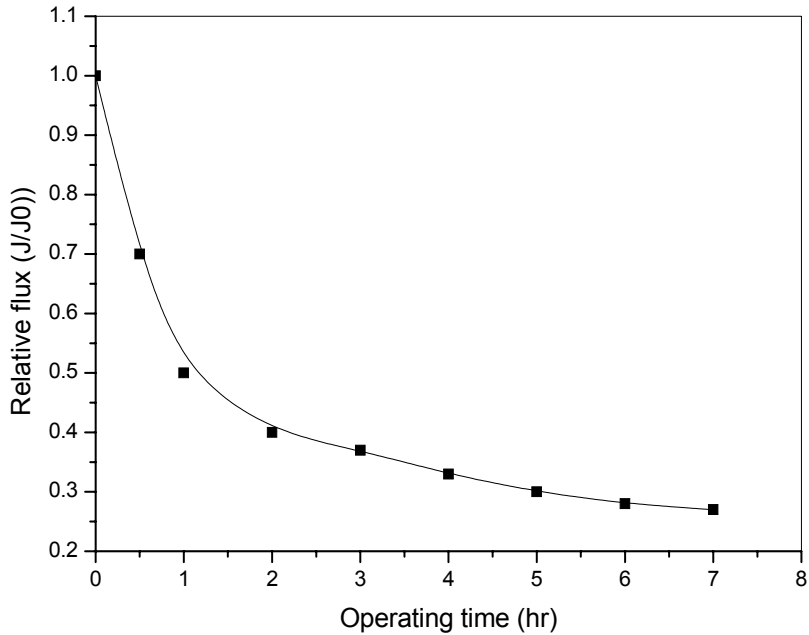


그림 52. 올리고펩타이드 용액의 시간에 따른 투과유량 변화.

#### 나. 나노복합막의 코팅

한외여과 복합막의 경우 시간에 따른 투과유량의 감소가 심하게 일어나는 것을 확인할 수 있었다. 실제 투과액의 생산효율을 증가시키기 위해서는 복합막의 표면을 처리하여 막오염을 줄일 필요가 있다. 일반적으로 복합막은 표면에 음하전을 띠고 있으며 막오염을 줄이기 위한 방법으로 중성고분자를 코팅하는 방법을 택하고 있다. 본 연구에서는 PVA를 코팅층으로 사용하였다. 사용된 PVA는 복합막 제조시 사용된 것과 같은 종류의 것을 사용하였다. 가교제로는 glutaraldehyde와 염산을 사용하였다.

##### 1) 재료 및 방법

중성고분자 코팅방법은 먼저 PVA 용액을 복합막 표면에 일정 시간 침지 후, 여분의 남아있는 용액을 고무롤러로 제거한 후, 가교제 용액에 일정 시간 침지시

키고 건조한 후 반응을 완성시킨다.

사용된 PVA 용액은 90°C의 물에 1시간가량 녹인 후 제조한다. PVA의 농도는 0.01%의 희박용액을 사용한다. PVA의 농도가 0.1% 이상이 되면 투과유량이 급격히 감소하여 한외여과막으로서의 성능을 잃어버린다. Glutaraldehyde와 염산의 농도는 각각 0.1%와 0.001%로 정하였다. PVA를 코팅하기 위한 한외여과 복합막은 분획분자량 3000의 piperazine을 기본으로 한 것이다.

## 2) 결과 및 고찰

표 26은 PVA의 농도에 따른 복합막의 투과성능을 나타낸 것이고 그림 53은 PVA를 코팅하기 전 후의 투과유량 감소율을 비교한 것이다. 0.01%의 PVA를 코팅하는 경우 분획분자량은 유지되면서 막오염은 현저히 저하시키는 것으로 나타났다.

표 26. PVA 농도에 따른 복합막의 투과성능

PVA 농도 (wt%)	투과유량 ( $m^3/m^2day$ )	분획분자량 (Da)
0.01	5.34	3000
0.1	4.78	2000
1	3.65	1000
2	2.98	400

테스트 용액, PEG 1000ppm 수용액; 테스트 압력, 225psi; 유량, 3.0L/min; 30분 운전 후 측정

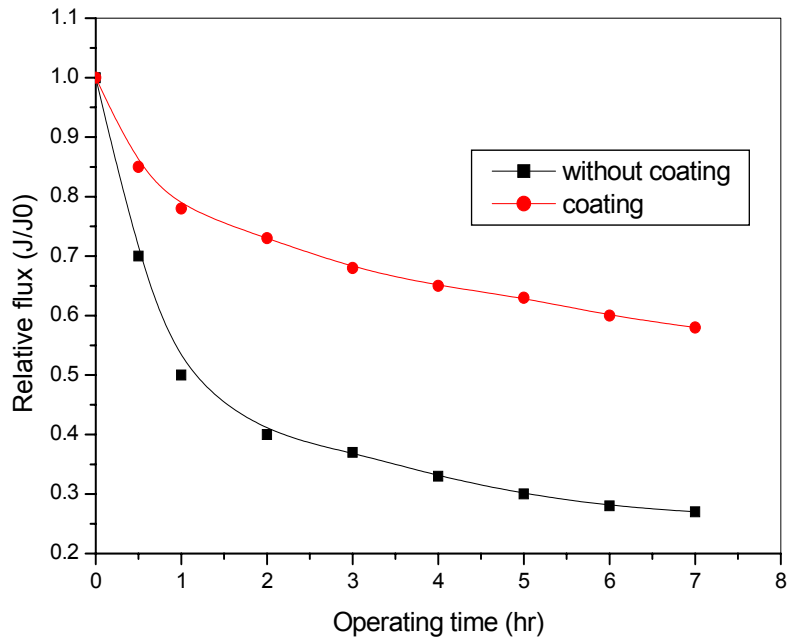


그림 53. PVA 코팅 전 후의 막오염.

## 6절 회수된 실크 세리신의 이용방안

### 1. 저분자 실크 세리신의 pilot 생산

#### 가. 재료 및 방법

실크 종이를 만드는 과정에서 실크 세리신을 회수하여 고정화 효소를 이용하여 가수분해하였다. 효소는 4절에서 언급하였듯이 실크 섬유에 세리신을 spacer arm 으로 도입한 후 고정하였다. 먼저 정련된 실크 섬유를 교반기의 끝에 감고 글루타알데히드와 반응시켰다. 이후 회수한 실크 세리신 중 일부와 반응시키고 다시 글루타알데히드로 반응시켰다. 마지막으로 효소를 반응시켜 효소를 실크 섬유에 고정화하였다.

회수된 실크 세리신의 저분자화는 그림 54의 5L 반응기에서 실시하였다. 반응기 외부로는 순환 수조와 연결하여 37°C를 유지하도록 하였다. 반응 후 저분자화된 세리신 용액은 하부의 배출구로 수집하여 동결건조하였다.

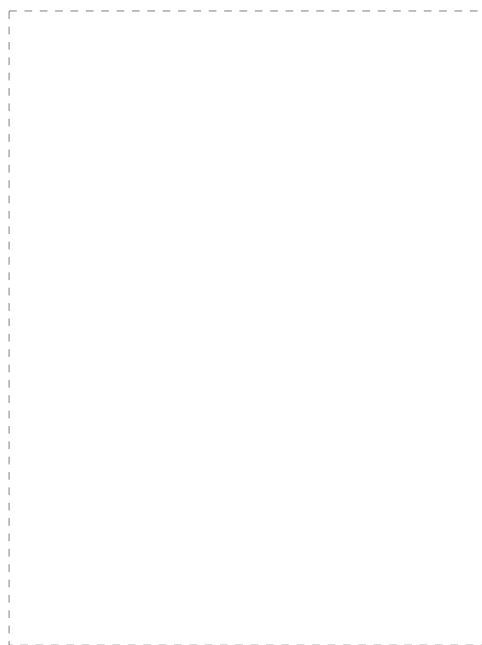


그림 54. 세리신 저분자화를 위한 5L pilot 반응기

## 나. 결과 및 고찰

앞서 4절에서 여러 종류의 반응기를 테스트한 결과 연속식 반응기가 가장 효율적이었으나 공급조에 있는 실크 세리신의 겔화되는 것이 관찰되어 pilot 설비는 회분식으로 설계하였다. 반응기는 이중벽으로 되어 있어 순환 수조를 연결하여 반응기내의 온도가 제어가능하도록 하였다.

저분자화 반응 중 반응 정도를 파악하기 위하여 시간대별로 샘플을 채취해 닐하이드린(ninhydrin) 테스트를 한 결과 그림 55에서처럼 1시간 내에 반응이 완료되는 것으로 나타났다. 1시간의 반응 후 흡광도가 약 0.25 증가하였는데 이는 고정하지 않은 자유효소가 30분간 반응한 수치와 거의 일치한다. 자유효소를 이용한 실험 결과 반응은 1시간 동안 계속 진행되었으며, 고정화 효소는 약 2시간 동안 계속 세리신의 저분자화가 이루어졌다. 따라서 이후 실험에서 실크 세리신의 저분자화는 3시간 동안 진행되었다. 그림 56은 가수분해된 실크 세리신 분말의 사진이다. 약 3L의 세리신 수용액을 저분자화하는 경우 동결건조 후 약 25g의 저분자화 세리신 분말을 얻을 수 있었다. 저분자화된 실크 세리신의 분자량은 그림 57과 같다. 카이모트립신과 트립신을 각각 처리한 경우보다 함께 처리한 경우 보다 많은 저분자 물질이 생성됨을 확인할 수 있었다.

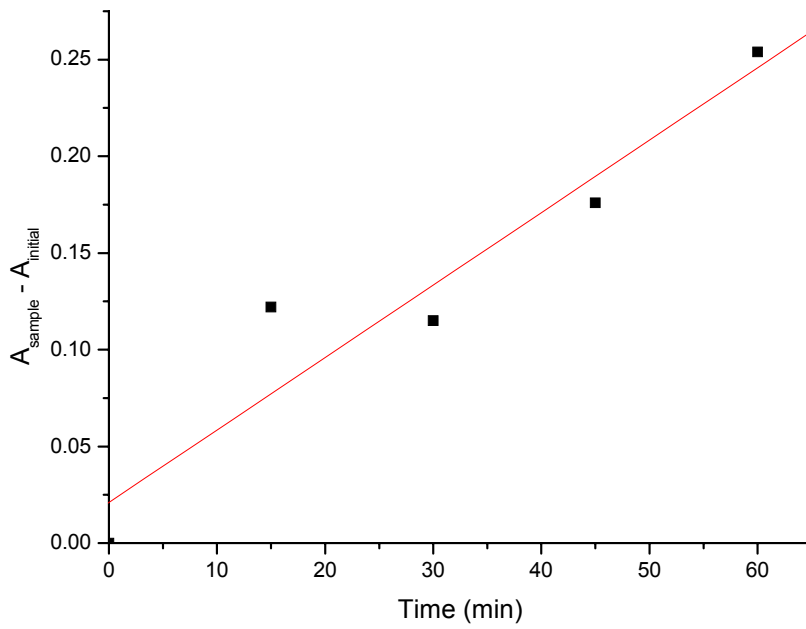


그림 55. Pilot 반응기에서 시간에 따른 실크 세리신의 가수분해 정도

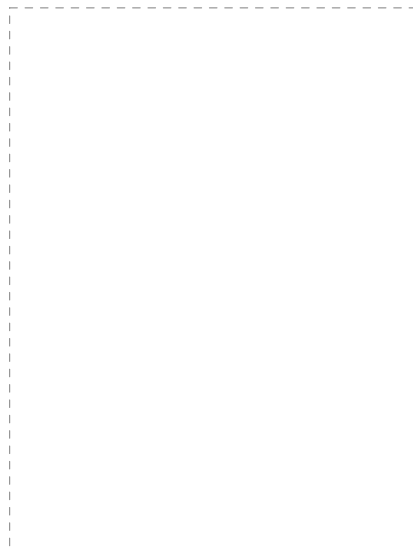
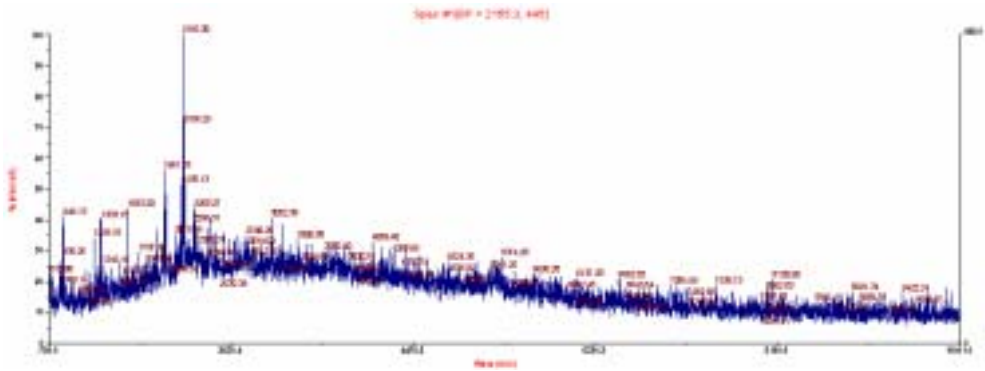
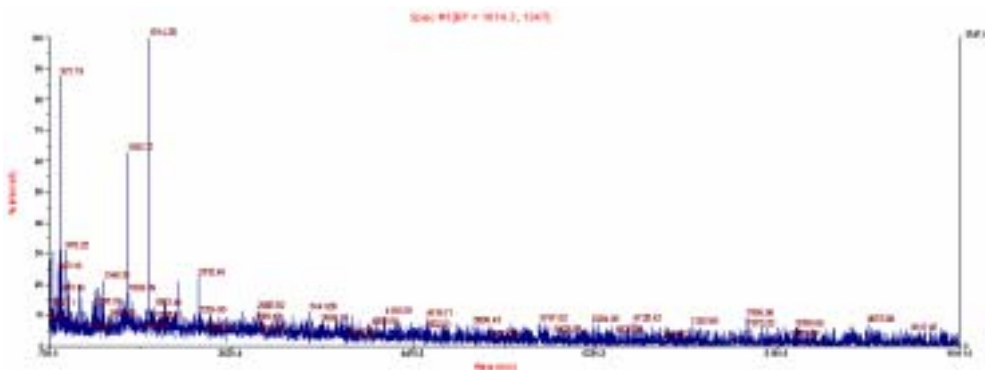


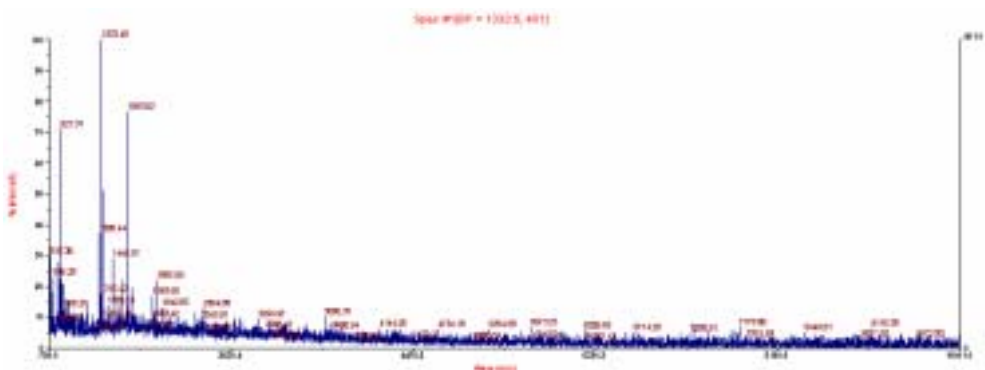
그림 56. 저분자 세리신 샘플



(a) 카이모트립신



(b) 트립신



(c) 카이모트립신 + 트립신

그림 57. 고정화 효소를 이용한 회분식 반응기에서 1시간 반응한 세리신의 분자량

## 2. 저분자 실크 세리신의 항산화능

### 가. 재료 및 방법

저분자 실크 세리신은 pH 7.4의 용액에 일정 농도로 용해한 후 슈퍼옥사이드 라디칼에 대한 소거능을 살펴보았다. 슈퍼옥사이드 라디칼은 화학적으로 발생시켰다. 저분자 실크 세리신은 분획분자량 3,000의 한외여과막을 이용하여 분자량 3,000 이하의 저분자 실크 세리신과 분자량 3,000 이상의 저분자 실크 세리신으로 분획하여 슈퍼옥사이드 소거능을 살펴보았다.

### 나. 결과 및 고찰

표 27은 여러 종류의 세리신이 슈퍼옥사이드 라디칼을 제거하는 능력을 나타낸 것이다. 고분자 세리신은 약 44%의 제거능을 나타내었으며, 저분자화한 세리신도 유사한 제거능을 나타내었다. 효소를 카이모트립신(chymotrypsin, CT3)을 사용한 경우 약 35.8%의 제거능을 가졌으며, 트립신(trypsin, T3)을 사용한 경우 34.5%가 제거능을 가졌다. 두 효소를 같이 사용한 경우에는 1시간만 반응시켰으며 그 결과 41.6%의 제거능을 나타냈지만, 실험에 사용된 세리신의 농도를 고려하면 유의성 있는 차이는 아니다.

따라서 트립신만을 고정하여 저분자 세리신을 제조하고 이를 분자량별로 분획하여 다시 항산화능을 측정하였다. 트립신을 이용하여 저분자화한 세리신은 전기영동에서 나타나지 않아 그 분자량이 10,000 이하임을 확인하였으며, MALDI-TOF MS의 결과 분자량 3,000을 기준으로 펩티드의 양상이 달라져 이를 기준으로 분획하여 항산화능을 측정하였다. 표 28에서 보듯이 3,000이상의 세리신에서 보다 높은 항산화능을 나타내었는데 이는 각 분획별 아미노산 조성의 차이에 의해 기인한다고 판단하여 각 분획에 대한 아미노산 조성 분석을 실시하였다. 그 결과 3,000 이하의 세리신과 그 이상의 세리신의 아미노산 조성에서 차이점이 발견되었다. 특히 세린의 함량이 가장 큰 차이를 나타내었다. 그러나 세린은 항산화능이 강한 아미노산이 아니며 상대적 증가폭도 그리 큰 편은 아니다. 오히려 주목해야 할 것은 트립토판의 조성변화이다. 분자량 3,000 이하에서는 그 함량이 0.2%에 불과하나 3,000 이상에서는 2.5%로 10배 정도 증가한 것을 볼 수 있다. 트립토판은 측쇄에 인돌(indole)기를 갖고 있어 매우 강력한 항산화 아미노산으로 분류되는데 이러한 트립토판이 많음으로 인하여 상대적으로 고분자 세리신의 항산화능이 보다 좋은 것으로 판단된다. 그러나 보다 구체적인 작용기작에 관한 연



구가 추후 요구된다.

최근 세리신은 피부암, 대장암 등을 억제할 수 있는 가능성이 보고되는 등 여러 생리활성이 보고되고 있다. 여기에는 세리신의 항산화능이 중요한 역할을 하는 것으로 보고되고 있다. 세리신이 지질 과산화 억제 등 항산화능이 있다는 사실은 잘 알려져 있다. 처음에 염려한 것을 저분자화하는 경우 그러한 항산화능이 감소할 수 있다는 가능성이었는데 실험 결과 항산화능의 감소는 없어 원래 세리신이 갖는 기능성을 유지할 수 있을 것으로 기대된다.

표 27. 고정화 효소별 저분자 실크 세리신의 슈퍼옥사이드 라디칼 제거능

	Concentration (mg/ml)	A <sub>517</sub>	Inhibition Rate (%)	Inhibition Rate/ Concentration
Control	0	0.985		
Sericin	0.60	0.551	44.1	0.735
CT3	0.45	0.632	35.8	0.796
T3	0.44	0.645	34.5	0.784
CT+T1	0.52	0.575	41.6	0.800

표 28. 실크 세리신의 분자량에 따른 슈퍼옥사이드 라디칼 제거능

	Concentration (mg/ml)	A <sub>517</sub>	Inhibition Rate (%)	Inhibition Rate/ Concentration
Control	0	0.986		
분자량 3,000 이상	0.65	0.542	45.0	0.692
분자량 3,000 이하	0.63	0.680	31.0	0.492

표 29. 저분자 세리신의 아미노산 조성 분석

	분획분자량 3,000 이상	분획분자량 3,000 이하
글리신	9.7	9.9
알라닌	8.1	7.5
페닐알라닌	0.6	1.1
발린	2.8	4.3
류신	1.4	1.9
이소류신	0.6	2.4
세린	34.8	25.6
트레오닌	10.3	8.0
티로신	3.1	4.2
시스틴	0	0.6
메티오닌	0	0.3
리신	2.2	7.3
아르기닌	4.5	6.1
히스티딘	1.1	1.9
아스파탁산	11.9	12.1
글루타민산	5.8	5.6
프롤린	0.6	1.0
트립토판	2.5	0.2

## 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

### 1절. 실크 종이의 제조 및 물성평가

실크 종이의 제조에 있어 가장 핵심적인 기술은 장섬유인 실크 섬유를 단섬유화 및 피브릴화하는 것인데 본 연구에서는 수산화나트륨과 탄산나트륨을 혼용함으로써 단섬유화와 피브릴화를 간단하게 이루었다. 또한 실크 종이의 물성 향상을 위하여 PEO와 전분을 혼합한 호제를 이용하여 실크 종이의 인장강도, 인열강도 및 굽힘강도를 향상시킬 수 있었다. 실크 종이는 실크 섬유와 마찬가지로 산성염료에 의하여 효과적으로 염색이 가능하였다. 따라서 당초 목표대로 실크 종이의 제조기술을 확립하였으며, 종이로서 충분한 물성을 달성하였다. 본 기술의 개발로 농가에서 단순히 절각견을 납품하는 것이 아니라 절각견을 손쉽게 피브릴화하여 보다 부가가치를 높여 종이 제조업체에 납품할 수 있을 것으로 판단된다.

### 2절. 뽕나무/실크 종이의 제조 및 물성평가

뽕나무 가지의 표피로부터 내피를 분리하여 화학적으로 표백 및 약화시켜 종이의 원료로 가공하는 기술을 확립하였다. 표백과 약화는 규산나트륨과 과산화수소를 이용하여 가능하였다. 이렇게 제조된 뽕나무 가지 섬유를 실크 섬유와 혼합하여 적절한 혼합비율을 찾았으며 더욱이 뽕나무/실크 종이가 포르말린 제거능이 있음을 밝혔다. 따라서 당초 목표대로 뽕나무/실크 종이의 제조기술을 확립하는데 성공하였으며 두 섬유를 혼용함으로써 물성을 더욱 향상시킬 수 있었다. 뽕나무/실크 종이의 포르말린 제거능은 최근 문제시 되고 있는 새집 증후군을 완화시킬 것으로 기대된다. 농가에서 이 기술을 활용한다면 뽕나무 가지를 수거하여 표피로부터 내피를 분리하여 표백시켜 판매할 수 있을 것으로 기대된다.

### 3절. 실크 종이 또는 뽕나무/실크 종이의 시작품 개발

실크 종이 또는 뽕나무/실크 종이를 효과적으로 생산하기 위한 체계를 갖추었다. 특히 실크 피브로인의 피브릴 방법을 체계화함으로써 균일한 피브릴의 생산이 가능하였다. 또한 초지기의 개발로 앞으로 실크종이의 상품화에 효과적으로 이용될 수 있을 것으로 생각된다. 따라서 당초 목표대로 실크 종이 또는 뽕나무/실크 종이의 제조기술을 체계화하는데 성공하였다. 경제성 평가에 있어서도 기존의 종이보다는 비싸지만 포르말린 제거능과 소취능력 등을 감안하면 충분한 활용이 가능할 것으로 예상된다.

### 4절. 실크 종이 제조공정에서 발생하는 실크 세리신의 저분자화

실크 종이를 제조하는 과정에서 안정적으로 세리신을 제거하는 방법을 확립하였으며, 회수된 세리신은 고정화 효소에 의해 저분자화하였다. 효소를 고정하는 지지체로는 실크 섬유에 세리신을 코팅시킨 지지체를 선별하였다. 이 지지체를 이용하여 효소를 고정화하였고, 이 고정화 효소를 이용한 여러 반응기를 제작하였다. 연속식 반응기가 가장 효율적이었으나 실제 적용에 있어서는 회분식 반응기가 더 적합하였다. 따라서 당초 목표대로 가장 효과적인 지지체를 선별하고 이를 이용하여 반응기를 제조하는데 성공하였다. 특히 본 연구에서 개발한 고정화 방법은 일반적인 실크 관련 업체에서 자체적으로 얻을 수 있는 물질과 설비로만 개발되었으므로 기존의 업체에서 추가적인 설비 설치의 부담이 없다는 장점이 있다.

### 5절. 단백질에 의한 막오염을 해결한 농축공정

분리막을 이용하여 세리신의 농축이 효과적으로 가능하였으며, 특히 분리막 이용시 발생할 수 있는 막오염을 효과적으로 저해할 수 있었다. 또한 분리막에 효

소를 결합함으로써 저분자화와 막의 내오염성을 동시에 이루었다. 저분자 세리신의 농축을 위해서 나노복합막을 개발하였으며, 나노복합막에 친수성 고분자를 도입함으로써 막오염의 문제를 해결하였다. 따라서 당초 목표를 달성하였으며 개발된 나노복합막은 세리신뿐만 아니라 이와 유사한 단백질의 농축에 효율적으로 이용될 수 있을 것으로 기대된다. 이러한 기술은 직접 농가에는 적용하기 어려운 면이 있으나 기존의 분리막 관련 업체에는 바로 활용이 가능한 기술이다.

## 6절 회수된 실크 세리신의 이용방안

저분자 실크 세리신을 생산할 수 있는 pilot 설비를 제작하였으며, 고정화 효소에 의해 효과적으로 저분자 세리신의 생산이 가능하였다. 특히 2종의 효소를 결합시킴으로서 보다 효율을 극대화할 수 있었다. 저분자 세리신의 분자량은 1,000-3,000 부근에 집중적으로 분포해 있어서 분자량별 세리신의 생산은 어려웠으나, 한외여과막을 이용하여 분리한 결과 분자량 3,000을 기준으로 세리신을 분리할 수 있었다. 슈퍼옥사이드 라디칼에 대한 제거능은 원래 세리신과 유사하거나 좋아서 저분자화에 의한 세리신의 원래 성질의 변화는 없는 것으로 판단된다. 이러한 저분자 세리신의 항산화능은 분자량 3,000에서 10,000사이 단백질에서 보다 강하게 나타났다. 한편 저분자화로 인하여 세리신 젤화 방지와 용해도를 향상시킬 수 있었으며 앞으로 저분자 세리신의 이용가능성을 보다 증가시켰다. 당초 목표대로 저분자 세리신을 효과적으로 생산하는 시스템을 갖추는데 성공하였으나 생리활성 등의 평가에는 다소 미흡한 점이 있다. 그러나 슈퍼옥사이드 라디칼의 제거능에서 보듯이 저분자화하여도 원래 세리신의 효능이 오히려 향상된 것처럼 앞으로 보다 구체적인 연구가 필요할 것으로 판단된다. 본 연구에서 제조된 저분자 세리신은 앞으로 화장품 등에 이용이 가능할 것으로 기대된다.

## 제 5 장 연구개발결과의 활용계획

본 연구 결과 실크 종이 및 뽕나무/실크 종이의 제조가 가능하였다. 따라서 앞으로 대량생산을 위한 추가적 연구가 이루어진다면 산업화가 가능할 것으로 기대된다. 특히 농가에서 직접 실크 종이를 제작하는 것보다는 그 원료가 되는 실크 피브릴 또는 뽕나무 내피 섬유를 생산함으로써 추가적인 부담없이 새로운 소득을 창출할 수 있을 것으로 기대된다.

저분자 세리신의 경우 그 생리활성을 실제 생체에 적용하여 확인하는 작업이 요구된다. 실험실 수준에서는 생리활성을 검증하는데 한계가 있을 수밖에 없다. 따라서 기존의 화장품 업계와 협력하여 생리활성을 추가적으로 검증하고자 한다. 현재 업체와 접촉 중에 있으며 특히 특정 금속이온과의 배위능을 평가하고 있다.

효소 고정화에 있어서는 본 연구에서 세리신을 도입함으로써 효소의 활성과 안정성을 증대시킨 결과를 보고하였다. 본 연구에서는 단백질 분해 효소만을 그 대상으로 하였지만 다른 효소에도 적용될 수 있을 것으로 기대된다. 현재 세리신을 도입한 고정화 방법을 이용하여 다른 효소에 적용하여 세리신의 효과를 규명하기 위한 연구를 진행 중에 있다.

본 연구는 인체친화적인 천연단백질인 세리신의 올리고펩타이드화를 위한 분리막 효소반응기에 관한 연구로서 최종 제품의 생산을 위한 방해인자를 충분히 제거할 수 있는 연구결과를 도출하였다. 그러나 올리고펩타이드의 연속생산을 위한 실용화 연구가 필요로 하며 용량의 scale-up을 통하여 최종 제품의 생산이 가능하다.

본 연구는 세리신의 올리고펩타이드화를 위한 기타 공정이 추가로 연구되었으며 즉 나노복합막 및 한외여과막 또한 막오염 제어를 위한 분리막 공정이다. 분리막 공정 및 소재는 현재 큰 시장진입을 앞두고 있으며 본 연구를 통해서 수처리를 위한 분리막 연구에 응용도가 크다고 할 수 있다.

## 제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

현재 실크 단백질에 관한 연구가 새로이 조명을 받고 있다. 물론 본 연구처럼 실크를 누에가 생산한 그대로 이용하는 것은 아니고, 일단 한번 용해하여 재생한 실크 단백질을 이용한 것이다. 이는 최근 각광받고 있는 생체모방기술과도 관련이 있는데, 실크 단백질이 그만큼 훌륭한 모델이 되기 때문이다. 특히 재생 실크 피브로인은 의료용 분야에서 주목을 받고 있다.

세리신은 그 동안 피브로인에 비하여 주목을 받지 못했다. 그러나 새로운 단백질원에 대한 관심이 증가하면서 다시금 주목을 받고 있다. 세리신에 관한 연구는 세리신을 고분자 소재로 보는 측면과 생리활성을 갖는 단백질로 보는 측면으로 나뉜다. 최근에는 오히려 후자에 더 관심이 증대되고 있다. 오래 전부터 세리신은 사람의 피부에 존재하는 천연보습인자(natural moisturizing factor, NMF)와 유사한 아미노산 조성을 갖고 있어 화장품에 널리 이용이 되어 왔다. 두 단백질의 공통점은 세린의 함량이 특이적으로 높다는 점이다. 세리신은 지질의 과산화와 티로시나제(tyrosinase)의 활성을 억제하는 것을 효과가 있음이 보고되었다. 지질의 과산화와 티로시나제는 피부의 노화와 관련이 있는 것으로 세리신을 기능성 화장품 원료로 이용할 수 있는 가능성을 제시하였다. 한편 세리신이 자외선으로 인한 피부의 화상이나 암의 진행도 억제하는 효과를 나타내었는데 이는 산화적 스트레스(oxidative stress)를 억제하는 세리신의 효과라고 설명하였다. 세리신은 식품으로서의 기능도 있는데, 세리신이 아스파탁산과 세린이 많다는 사실에 착안하여 이들이 금속성분과 배위결합을 하여 금속성분의 장내흡수를 도울 수 있을 것으로 기대하였다. 열수추출한 세리신을 쥐에 투여하여 금속성분의 흡수도를 측정한 결과 아연, 철, 마그네슘 그리고 칼슘의 소화흡수가 각각 41%, 41%, 21% 그리고 17% 향상되었다. 이들에 의하면 이러한 금속성분의 소화흡수를 돕는 단백질은 casein phosphopeptides(CPP)이후 세리신이 처음이라고 보고하였다. 또한 결장암을 유도한 쥐를 이용한 실험에서 세리신을 섭취한 쥐는 결장내의 선종의 수가 62%까지 억제되는 것으로 밝혀졌다.

한편 세포배양을 통한 다양한 실험과 물질의 생산이 증가하면서 이들 세포를 효과적으로 보관하는 문제가 대두되었다. 많은 경우에 있어 냉동보관을 하게 되는데 이 경우 세포의 파괴가 발생할 수 있다. 따라서 이러한 피해를 방지하기 위

하여 동결방지제가 이용되는데, 세리신의 경우에도 이러한 효과가 발견되었다. 특히 세리신에서 발견되는 38개의 아미노산 반복서열을 생합성하여 첨가한 결과, 기존의 동결방지제와 유사한 결과를 얻었다.

세리신은 세포의 보관뿐만 아니라 세포의 배양액의 성분으로도 이용가능성이 제시되었다. 세포를 배양하는 경우 기존에는 세포의 영양분으로 배양액에 혈청을 혼합하였지만 최근에는 무혈청 배양액의 이용이 증가하고 있는 추세이다. 그러나 기존의 배양액을 무혈청 배양액으로 교체하는 경우 급성혈청결핍(acute serum deprivation)에 의한 세포의 괴사가 발생할 수 있다. 하지만 무혈청 배양액에 세리신을 첨가하는 경우 곤충세포에서의 위와 같은 괴사를 억제하는 것으로 보고되었다. 한편, 당뇨병의 연구와 치료에 있어서 췌장 세포의 배양은 매우 중요한 기술인데, 배양액에 혈청대신 세리신을 공급한 결과, 쥐의 췌장세포 배양에 효과적임이 발표되었다.



## 제 7 장 참고문헌

1. Y. Q. Zhang, *Biotechnol. Adv.*, 20, 91 (2002)
2. H. Jin, D. Kaplan, *Nature*, 424, 1057 (2003)
3. K. H. Lee, *Macromol. Rapid Commun.*, 25, 1792 (2004)
4. 胡衛軍, 嶋田透, 小林正彦, *日蠶雜*, 61, 236 (1992)
5. T. Gamo, T. Inokuchi, H. Laufor, *Insect Biochem.* 7, 285 (1977)
6. J. J. Michaille, P. Couble, J. C. Prodhomme, A. Garel, *Biochimie*, 68, 1165 (1986)
7. J. J. Michaille, A. Garel, J. C. Prodhomme, *Sericologia*, 30, 49 (1990)
8. 朱良均, 荒井三雄, 平林潔, *日?雜*. 64, 209 (1995)
9. 小松計一, *?試報*. 26, 135 (1975)
10. A. Garel, G. Deleage, J. C. Prudhomme, *Insect Biochem, Molec, Biol*, 27, 469 (1997)
11. J. Huang, R. Valluzzi, E. Bini, B. Vernaglia, D. L. Kaplan, *J. Biol. Chem.*, 278, 46117 (2003)
12. J. J. Michaille, A. Garel, J. C. Prudhomme, *Gene*, 86, 177 (1990)
13. E. Iizuka, *Biochim. Biophys. Acta.*, 181, 477 (1969)
14. L. J. Zhu, M. Arai, K. Hirabayashi, *J. Seric. Sci. Jpn.*, 64, 420 (1995)
15. 朱良均, 荒井三雄, 平林潔, *日蠶雜*, 65, 270 (1996)
16. 塚田益裕, *日?雜*, 52, 157 (1983)
17. K. G. Lee, H. Y. Kweon, J. H. Yeo, S. O. Woo, Y. W. Lee, C. S. Cho, K. H. Kim, Y. H. Park, *Int. J. Biol. Macromol.*, 33, 75 (2003)
18. H. Teramoto, M. Miyazawa, *J. Insect Biotechnol. Sericol.*, 72, 157 (2003)
19. H. Teramoto, M. Miyazawa, *Biomacromolecules*, 6, 2049 (2005)
20. Y. Takasu, H. Yamada, K. Tsubouchi, *J. Insect Biotechnol. Sericol.*, 71, 151 (2002)
21. A. Kurioka, F. Kurioka, M. Yamazaki, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 68, 774 (2004)
22. H. H. Mosher, *Am. Dyes. Rept'r.* 21, 341 (1932)

23. Y. Takasu, H. Yamada, K. Tsubouchi, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 66, 2715 (2002)
24. K. Tsubochi, Y. Igarashi, Y. Takasu, H. Yamada, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 69, 403 (2005)
25. K. H. Lee, G. D. Kang, B. S. Shin, Y. H. Park, J. H. Nahm, *Int. J. Indust. Entomol.*, 8, 195 (2004)
26. K. H. Lee, G. D. Kang, B. S. Shin, Y. H. Park, *Fibers and Polym.*, 6, 1 (2005)
27. Y. Q. Zhang, M. L. Tao, W. D. Shen, Y. Z. Zhou, Y. Ding, Y. Ma, W. L. Zhou, *J. Biomaterials*, 25, 3751 (2004)
28. K. Y. Cho, J. Y. Moon, Y. W. Lee, K. G. Lee, J. H. Yeo, H. Y. Kweon, K. H. Kim, C. S. Cho, *Int. J. Biol. Macromol.*, 32, 36 (2003)
29. K. Kato, S. Sato, A. Yamanaka, H. Yamada, N. Fuwa, M. Nomura, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 62, 145 (1998)
30. M. Zhaorigetu, N. Yanaka, M. Sasaki, H. Watanabe, N. Kato, *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, 71, 11 (2003)
31. M. Sasaki, H. Yamada, N. Kato, *Nutr. Res.* 20, 1505 (2000).
32. S. Zhaorigetu, M. Sasaki, H. Watanabe, N. Kato, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 65, 2181 (2001)
33. K. Tsujimoto, H. Takagi, M. Takahashi, H. Yamada, S. Nakamori, *J. Biochem.*, 129, 979 (2001)
34. M. Takahashi, K. Tsujimoto, H. Yamada, H. Takagi, S. Nakamori, *Biotechnol. Lett.*, 25, 1805 (2003)
35. W. Tischer, Wedekind, F., *Topic of Current Chemistry*, 200, 95 (1999)
36. F. Wedekind, *Immobilized enzymes : Methods and Allpications, Topics in current Chemistry* 200.
37. Q. T. Nguyen, Z. P. Nguyen and P. Rigal, *J. Membrane Sci.*, 213, 85-95, 2003.
38. N. Vasileva, T. Godjevargova, *J. Membrane Sci.*, 239, 157-161, 2004.
39. M. Nouaimi, K. Moschel and H. Bisswanger, *Enzyme and Microbial Technology*, 29, 567-574, 2001.

40. J. F. Diaz, K. J. Balkus, *J. Mol. Catal B : Enzymatic* 2, 115, 1996.
41. H. Takahashi, B. Li, T. Sasaki, C. Miyazaki, T. Kajino and S. Inagaki, *Chem. Mater.* 12, 3301-3305, 2000.
42. Rimple B. Bhatia and C. Jeffrey Brinker, Aqueous Sol-Gel process for protein encapsulation *Chem. Mater.* 12, 2434-2441, 2000.
43. L. Betancor and R. F. Lafuente, *Biomacromolecules*, 6, 1027, 2005.
44. H. R. Luckarift, J. C. Spain, R. R. Naik and M. O. Stone, *Nature Biotechnology*, 22, 2, 2004.
45. B. Krajewska, *Enzyme and Microbial Technology*, 35, 126, 2004.
46. A. Cetinus and H. N. Oztop, *Enzyme and Microbial Technology*, 32, 889, 2003.
47. Y. M. Yang, J. W. Wang and R. X. Tan, *Enzyme and Microbial Technology*, 34, 126, 2004.
48. V. Trevisan, M. Singnoreto, S. Colonna, V. Pironti, and G. Strukul, *Angew. Chem.*, 116, 4189, 2004.
49. M. Mulder, *Basic principles of membrane technology*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 1996.
50. R. Sheikholeslami, *Desalination*, 123, 45, 1999.
51. Udel(R) Polysulfone Catalog, Solnay Advanced Polymer Co. Ltd., Tokyo, Japan, 2002.
52. W. J. Feast, H. S. Munro (Ed.), *Polymer surfaces and interactions* , Wiley, Chichester, 1987.
53. J. A. Koehler, M. Ulbricht, G. Belfort, *Langmuir*, 13, 4162, 1997.
54. A. D. Marshall, P. A. Munro, G. Tragardh, *Desalination*, 91, 65, 1993.
55. G. Belfort, A. L. Zydney, Interactions of proteins with polymeric synthetic membranes, in: M. Malmsted (Ed), *Interfacial Behavior of Biopolymers*, Marcel Dekker, Inc., New York, 1998.
56. M. Taniguchi, J. E. Kilduff, G. Belfort, *J. Membr. Sci.*, 222, 59, 2003.
57. M. A. Saad, *Desalination*, 88, 85, 1992.
58. M. O. Saeed, A. T. Jamaluddin, I. A. Tisan, D. A. Lawrence, M. M. Al-Amri, K. Chida, *Desalination*, 128, 177, 2000.

## 주 의

1. 이 보고서는 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.