

〈研究論文(學術)〉

트리팔미틴 오구포의 세척성에 미치는 리파제의 효과

이난형 · 유효선 · 김성련

서울대학교 가정대학 의류학과
(1996년 9월 10일 접수)

The Effect of Lipase on the Removal of Tripalmitin Soiled Fabric

Nan Hyung Lee, Hyo Sun Rhyu and Sung Reon Kim

Dept. of clothing science, Seoul National University, Seoul, Korea
(Received September, 1996)

Abstract—This study was carried out to examine the effect of lipase on the removal of tripalmitin in the various conditions of washing.

The soiled fabric was prepared by spotting of tripalmitin solution evenly on the polyester fabric and was baked in the oven and was aged for a week. The soiled fabric was washed by using Terg-O-Tometer at various conditions. The detergency was evaluated by analysing the tripalmitin tagged with C^{14} on the fiber before and after washing by means of liquid scintillation counting.

1. 서 론

섬유상에 오염된 글리세리드와 같은 오구를 제거하기 위해서는 트리글리세리드를 분해하는 리파제의 사용이 세제에 도입되기 시작하였다.

이러한 효소 배합세제는 1913년에 독일의 Rohm¹⁾이 동물의 똥장으로부터 얻은 효소를 세제에 응용하는 특허를 얻고 이를 Burnus라는 명칭으로 시판하면서부터 시작되었다.

그 후 효소세제의 획기적인 발전은 덴마크의 Novo사에서 알카리성 프로테아제인 알칼라제를 개발하면서 이루어지기 시작하여 1963년 네덜란드에서 알칼라제가 배합된 Biotex라는 세제를 시판하기 시

작한 이래로 유럽에서는 효소세제가 본격적으로 출하되기 시작하였다.²⁾ 최근 이와같은 효소세제는 활성이 강하고 알칼리에 안정성이 높은 효소세제의 개발과 함께 보건상 안전성이 보장됨으로써 그 사용이 증가되었다. 또, 이러한 배경으로는 유럽의 세탁습성과 세탁기의 형식이 가온장치가 있고 세탁시간이 길어서 효소세제의 사용에 알맞았기 때문이다.

1970년대에 환경오염 문제로 인한 인산염의 사용이 규제됨에 따라 세척에서 효소의 중요성이 날로 고조되었으며 효소의 사용은 세척효과의 향상뿐만 아니라 세척온도를 낮추는데도 기여하고 있다.^{3~6)}

세제에 배합되는 효소로는 단백질 분해효소인 프로테아제, 전분 분해효소인 아밀라제, 유지 분해효

소인 리파제 및 셀룰로오스 분해효소인 셀룰라제 등이 있다.⁷⁾ 이중 현재까지 널리 사용되고 있는 것은 단백질 분해효소인 프로테아제이며 이에 대해서는 많은 연구가 되어있다.^{8~14)}

한편, 유지 분해효소인 리파제의 세제에의 도입은 최근에 들어와서 주목을 받게 되었으나, 그의 효과에 관해서는 연구자간에 이견이 있어서 아직은 일부 세제에만 이용되고 있는 실정이다.

1972년 Clements 등¹⁵⁾은 *Candida cylindracea*로부터 얻은 리파제를 세제에 이용하는 특허를 얻었으며, Seitz¹⁶⁾는 합성세제에 리파제를 첨가하면 세척효과가 향상된다고 보고하였다.

Tatara 등^{17~18)}은 *Candida cylindracea*로부터 얻은 리파제를 사용한 면섬유로부터의 지용성오구의 제거에 대한 연구에서 리파제를 세척온도 37°C의 비이온 계면활성제용액에 첨가할 경우 지용성 오구의 제거가 15~20% 증가할 수 있다고 보고하고, 리파제를 지용성오구의 제거에 이용이 가능하다고 제시했다.

리파제를 세제에 배합하여 사용하기 위해서는 내알카리성이 중요한데, 내알칼리성을 가진 리파제로는 *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Candida* 및 *Sclerotinia*와 같은 미생물에서 얻은 리파제가 있다.^{19~21)}

Tatara 등²²⁾은 미생물로부터 얻은 7종의 리파제(*Candida cylindracea* 2종, *Mucor sp.* 2종, *Aspergillus var.*, *Rhizopus arrhizus*, *Pseudomonas*)와 동물의 췌장으로 부터 얻은 1종의 리파제(*Porcine pancrea*)를 사용하여 트리글리세리드의 가수분해를 연구한 결과 효모 리파제인 *Candida*로부터 얻은 리파제와 곰팡이 리파제인 *Mucor*로부터 얻은 리파제가 현재의 저온 알칼리세탁에 더 적합하다고 제시하였고, Hashimoto 등^{23~24)}은 위의 7가지 리파제를 사용하여 pH 7.0~10.0에서 리파제의 효과를 연구한 결과 리파제의 효과는 pH 7.0보다는 pH 10.0에서 더 컸다고 제시하였다.

坂口²⁵⁾는 트리글리세리드를 가지고 온도 30°C, pH 7.0~10.5에서 리파제의 활성을 측정된 결과 리파제의 활성은 pH가 증가할수록 증가한다고 보고하였다.

한편, 대부분의 리파제의 작용에 최적인 온도는 30~40°C 부근이라고 알려져 있는데 이에 대한 인

구로는 다음과 같은 것이 있다.

Andree 등²⁶⁾은 여러가지 시판 리파제를 사용하여, 면직물로 부터 트리글리세리드의 제거에 대한 연구에서 리파제의 활성은 30°C에서 비이온 계면활성제 사용시 최고를 나타내었으며, 세척성은 리파제의 농도가 증가할수록 증가한다고 보고하였다.

또한, 坂口²⁵⁾는 온도에 따른 활성의 연구에서 리파제의 활성은 반응온도 40°C에서 최고에 달했다고 보고하였으며 Umehara 등²⁷⁾은 세척계에서의 알칼린 리파제의 거동에 대한 연구에서 리파제의 활성이 35°C 부근에서 최고에 달했다고 제시했다.

지용성 오구의 가수분해시 리파제의 특성은 리파제농도, pH, 온도와 같은 가수분해 조건 뿐만 아니라 기질의 종류와 기질의 상태에도 크게 의존한다.

岩井²⁷⁾은 리파제의 효과를 연구하기 위해 *Rhizopus delemar*, *Geotrichum candidum*, *Aspergillus niger*와 *Penicillium cyclopium*으로부터 얻은 4종류의 리파제를 사용하여 올리브유, 피마자유, 오동나무유와 야자유와 같은 천연유지에 대해 실험한 결과, 이 각각의 리파제는 기질에 따라 반응성이 서로 다름을 보고하였다.

리파제의 작용은 계면활성제를 비롯한 첨가물에 의해서도 그 활성이 달라진다고 한다.

Fujii 등²⁸⁾은 리파제에 의한 트리글리세리드의 제거에 대한 연구에서 리파제의 활성은 계면활성제의 농도증가에 따라 점차적으로 감소하였는데, 이러한 리파제의 활성 저하는 계면활성제로 AOS(sodium α -olefin sulfonate)와 AES(sodium dioxyethylene dodecyl ether sulfate)를 사용한 경우가 SDS(sodium dodecyl sulfate)나 LAS(sodium 1-n-dodecylbenzene sulfonate)를 사용한 경우보다 활성저하가 적었고, LAS의 경우는 0.005% 이하의 낮은 농도에서 리파제의 활성이 잘 유지되어 가수분해에 의한 트리글리세리드의 세척성이 증가한다고 하였다.

Hashimoto 등^{23~24)}은 면섬유로부터의 포화 트리글리세리드의 제거에 대한 리파제의 효과에 관한 연구에서 리파제는 음이온 계면활성제인 SDS보다 비이온 계면활성제인 AE(alkyl decaoxyethylene ether)를 사용하였을 때 트리글리세리드의 제거에 더 효과적이었다고 하였다.

Kawase 등^{29~30)}도 리파제에 의한 트리글리세리드

의 제거는 SDS 보다 AE 계에서 더 효과적이라고 제시하였으며 음이온 계면활성제에 비이온 계면활성제를 혼합하여 사용하면, 음이온 계면활성제에 의한 리파제 활성의 억제현상을 피할 수 있다고 보고하였다.

Sato 등³¹⁾은 무인산염 세제를 위한 처방의 한가지로 *Rhizopus delemar*와 *Mucor sp.*로 부터 얻어진 리파제를 이용한 연구에서, 음이온 계면활성제에서는 리파제의 활성이 감소되나 비이온 계면활성제를 첨가하면 활성이 안정화된다고 하였다.

그리고 坂口²⁵⁾도 리파제의 활성은 음이온 계면활성제보다는 비이온 계면활성제 사용시에 더욱 안정하다고 하였다.

Kim 등^{32~33)}은 리파제와 계면활성제의 상호작용에 대한 연구에서 리파제-계면활성제 복합계의 전기전도도, 표면장력, 가용화 및 흡착등온선을 측정하여 상호작용에 의해 생기는 리파제-SDS 복합체의 형성을 밝혔다. 이 연구에 의하면 리파제-SDS 혼합용액의 표면장력값은 SDS 단독용액의 경우보다 SDS의 모든 농도에서 낮았으며, 리파제-SDS 복합계에서는 SDS의 cmc 보다 낮은 농도인 $1 \times 10^{-3}M$ 에서 가용화가 시작된다고 하였으며, 지용성 오구는 리파제-SDS 복합체와 유리 계면활성제간의 상호작용으로 소수성 영역에 가용화되므로, 가용화기구는 중요한 지용성 오구의 제거기구라 지적했다.

Gormsen 등³⁴⁾은 리파제에 대한 계면활성제의 영향과 세척횟수의 영향에 대한 연구에서 리파제는 음이온 계면활성제에서 보다는 비이온 계면활성제에서 훨씬 안정하다 하였고, 면직물로 부터의 lard/sudan red 오염의 제거시 세척을 반복한 결과 축적된 오구의 제거에 리파제가 효과가 있다고 하였다.

또한, Aaslyng³⁵⁾은 폴리에스테르/면 혼방직물로 부터 lard/sudan red 오염 제거시 리파제의 효과는 1회 세척보다는 세척횟수가 거듭될수록 그 의미가 커졌다고 보고하였다.

이상의 연구결과에 의하면, 리파제에 의한 트리글리세리드의 제거기구는 트리글리세리드가 리파제에 의해 가수분해되어 유리 지방산을 형성하므로써 오구의 극성이 증대되어 지용성 오구의 제거가 용이함을 알 수 있다. 세척에서 리파제의 효과는 계면활성제로는 비이온 계면활성제가 효과적이며, 리

파제가 세척계에서 계면활성제와 상호작용하여 일종의 리파제-계면활성제 복합체를 형성함으로써, 세액의 표면장력을 계면활성제 단독용액보다 낮추어 줌으로써, 섬유와 오구사이로의 세액의 침투를 도와 오구의 제거를 용이하게 해준다고 하였다.

따라서 이 연구에서는 실온에서 고체상태인 트리팔미틴의 제거에 미치는 리파제의 효과를 세척조건에 따라 검토하기 위하여, 모델오구로 피지중에 가장 많이 포함된 포화지방인 트리팔미틴을 선택하고, 시험포로는 소수성 섬유중의 하나인 폴리에스테르 직물을 선택하였다. 트리팔미틴 오염포의 세척성에 미치는 효소농도, 침지시간, 세척온도, 세척액의 pH, 반복세척효과 및 반복오염에 따른 세척효과등을 검토하였다.

2. 실험

2.1 시험포 및 시약

2.1.1 시험포

섬유류 제품의 염색 건리도 시험용 침부백포(KS K 0905, 한국의류시험검사소)를 아염소산 나트륨($NaOCl_2$) 2g/l, 포름산(HCOOH) 2g/l, 질산(HNO_3) 2g/l용액에 액비 30 : 1, 60°C 에서 1시간 정련한 후 암모니아수로 중화하고 충분히 수세하여 자연건조하였다.⁷⁰⁾ 사용한 시험포의 특성은 Table 1과 같다.

Table 1. Characteristics of fabric

Material	polyester 100%
Weave	plain
Fabric count (ends x picks/5cm)	210×191
Yarn number(denier)	75×75

2.1.2 시약

리파제 : *Aspergillus oryzae*로 부터 얻은 alkaline lipase인 Lipolase 100T(Novo IND)를 사용하였다.

Declared activity : 100KLU/G
 글리세롤 트리팔미테이트 (트리팔미틴)
 : 시약일급, 東京化成

글리세롤 트리(1-¹⁴C)팔미테이트

: specific activity 60mCi/mmol

radioactive concentration 50vCi/mmol radiochemical purity 99%

(T.L.C. on Silicagel)

(The Radio Chemical Center, Amersham)

1-monopalmitoyl glycerol : 시약일급, Sigma

1,2-dipalmitoyl glycerol : 시약일급, Sigma

1,3-dipalmitoyl glycerol : 시약일급, Sigma

Sodium bis(2-ethyl-hexyl) sulfosuccinate(AOT)

: Reagent grade, Sigma

2-Amino-2-hydroxy-methyl-1,3-propandiol(TRIS)

: Reagent grade, Sigma

2,5-Diphenyl oxazole(ppo)

: scintillation grade, Merck

2,2-p-Phenylene bis-(5-phenyl oxazole) (popop)

: scintillation grade, Merck

Polyethylene glycol mono-p-nonylphenyl ether

(NPE-10)

: 시약일급, 東京化成

Sodium dodecyl benzene sulfonate(LAS)

: 시약일급, 東京化成

그 밖의 시약은 시약일급을 사용하였다.

2.2 실험방법

2.2.1 오염포 제작

시험포를 벤젠 : 에탄올 = 2 : 1의 공비혼합물을 포함하는 soxhlet 추출기로 8시간 추출한 후 3.5cm × 7.5cm로 잘라 가장자리 율을 풀어 사용하였다.

¹⁴C-트리팔미틴을 적정량 첨가한 트리팔미틴 0.5g을 10ml volumetric flask에 넣고 벤젠으로 용해하여 5% (W/V)의 트리팔미틴용액을 만들었다.

이 용액을 20 ± 1°C 에서 micro pipet을 사용하여 200μl를 취해 건조시킨 시험포에 균일하게 점적하였다. 이때 오염포의 트리팔미틴의 함량은 약 5% (o. w.f)이고 한 시료당 약 0.01μCi의 radioactive 트리팔미틴을 함유하여 세척전 오염포의 比較放射活動도는 오염포 1매당 20,000~25,000 c.p.m(counts per minute)이 되도록 하였다. 이렇게 제작된 오염포는 건조 오븐에서 30분간 처리한 후 20°C, 65% RH의 표준상태에서 1주일간 숙성시켜 사용하였다.

2.2.2 세척

2.2.2.1 세제

세제로는 계면활성제 20%에 조제 80%를 배합하여 사용하였는데 조제는 Table 2와 같이 pH를 10.5 로 맞추기 위하여 Na₂SO₄ 29%, STPP 40%, Na₂SiO₃ 11%의 조성으로 사용하고 여기에 계면활성제를 첨가하지 않거나 계면활성제로 LAS나 NPE를 배합하여 사용하였다. pH의 영향을 보기위해서는 Table 2와 같은 조성을 지닌 세제를 사용하였다. 용수로는 증류수를 사용하였다.

Table 2. Composition of detergent for pH control

Surfactants	Na ₂ SO ₄	STPP	Na ₂ SiO ₃	pH
NPE (%)	(%)	(%)	(%)	(solution)
20	80.0	0.0	0.0	6.31
20	78.0	2.0	0.0	7.00
20	73.6	6.4	0.0	8.00
20	40.0	40.0	0.0	9.16
20	29.0	40.0	11.0	10.50

2.2.2.2 세척방법 및 세척률 평가

Terg-O-Tometer를 사용하여 소정의 온도로 맞춘 0.1% 세액 500ml에 오염포 3매를 넣고 침지온도, 침지시간, 효소농도, pH, 교반속도 및 침지 중 교반방법을 달리하여 세척한 후 세척시와 같은 온도에서 증류수 500ml로 3분간 2회 헹구어 공기중에서 자연건조하였다.

세척전후의 오염포를 각각 20ml counting vial의 벽에 붙여 수직으로 세우고 6.0g의 popo와 0.1g의 popop를 toluene 1l에 용해시켜 만든 scintillation solution을 18ml씩 넣고 실온에서 2시간 방치한 후 liquid scintillation counter(Packard TRI-CAR13 Spectrometer)에서 2분간 1회 counting한 c.p.m.으로 다음식에 의해 세척률을 계산하였다.

$$\text{세척률} = \frac{D_1 - D_2}{D_1} \times 100(\%)$$

D₁: 세척전 오염포의 c.p.m.

D₂: 세척후 오염포의 c.p.m.

3. 결과 및 고찰

세척계에서 리파제가 트리팔미틴의 제거에 미치는 영향을 알아보기 위하여 리파제농도, 침지시간, 세척온도, 세액의 pH, 계면활성제의 종류 및 세척반복 횟수등을 변화시키면서 트리팔미틴의 세척성을 검토하였다.

3.1 효소농도의 영향

세척액에 첨가한 리파제 농도가 트리팔미틴 오구포의 세척성에 미치는 영향을 알아보기 위하여, 세척온도 40°C, 세액의 pH 10.5, 세제농도 0.1%, 침지시간 2시간, 세척시간 10분, 교반속도 40rpm으로 하고 리파제농도를 0, 50, 100, 150, 200, 250mg/l로 하였을때 리파제 농도에 따른 세척률을 Fig. 1에 나타내었다. 기계적 작용이 리파제의 작용에 미치는 영향을 최소로하기 위하여 교반속도는 40rpm으로 최소로 하여 세척성 실험을 하였다.

이때 세액의 조성은 pH 를 10.5로 맞추기 위하여 세척조제의 비율을 Na₂SO₄ 29%, STPP 40%, Na₂SiO₃ 11%로 하고, 여기에 계면활성제(LAS 또는 NPE) 20%를 배합하여 사용하였다.

Fig. 1에서 알 수 있는 바와 같이 트리팔미틴의 세척률은 어느 경우에 있어서나 리파제의 농도 증가와 함께 증가하다가, 리파제농도 150~200mg/l에서 최대 세척률을 나타내고 그 이상에서는 도리어 세척률이 감소하였다.

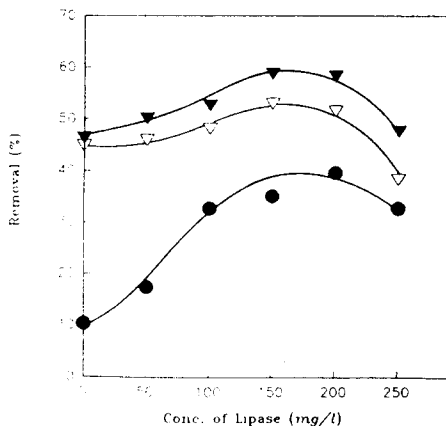


Fig. 1 Effect of lipase concentration on the removal of tripalmitin with various detergent solutions. Detergent composition : Na₂SO₄ 29%, STPP 40%, Na₂SiO₃ 11%,

Surfactant 20%

(●) without surfactant

(▽) LAS

(▼) NPE

Washing conditions

: pH	10.5
Temp.	40±0.1°C
Agitation speed	40 rpm.
Presoaking time	2 hrs.
Washing time	10 min.

그리고, 리파제농도 200mg/l 이상에서는 어느 경우에 있어서나 세척성이 감소함을 알 수 있었다. 이에 대한 것은 뒷부분에서 세척포에 남아있는 가수분해 생성물을 HPLC에 의해 분석하여 검토해 보았다.

그리고 계면활성제의 첨가 유무에 따른 리파제의 효과는, 계면활성제를 첨가하지 않은 세액으로 세척한 경우에 리파제농도 증가에 따른 효과가 더 명확히 나타났는데, 이는 계면활성제를 첨가하면 계면활성제 자체에 의한 세척성이 커지기 때문에 리파제농도 증가효과가 크게 기여하지 못한 것으로 여겨진다.

한편, 계면활성제의 종류의 영향은 LAS, NPE 모두 리파제농도 변화에 따른 세척성이 같은 경향을 나타냈으나, 비이온 계면활성제인 NPE를 첨가한 경우가 음이온 계면활성제인 LAS를 첨가한 경우보다 리파제에 의한 트리팔미틴의 제거효과가 더 크게 나타났다. 이와같은 결과는 坂口²⁵⁾, Hashimoto²³⁻²⁴⁾, Kawase²⁹⁻³⁰⁾ 등이 제시한 것처럼 리파제의 활성은 음이온 계면활성제 보다는 비이온계 계면활성제에서 더 안정하므로, 비이온 계면활성제인 NPE를 사용했을 때 리파제에 의한 트리팔미틴의 세척효과가 더 크게 나타난 것으로 여겨진다.

3.2 침지시간의 영향

세척전의 침지시간이 트리팔미틴 오구포의 세척성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 리파제농도를 100mg/l와 200mg/l, 세척온도 40°C, 세액의 pH 10.5, 세제농도 0.1%, 세척시간 10분, 교반속도 40rpm으로 하여 침지시간을 0, 0.5, 1, 2, 4, 6시간으로 변화시키면서 침지시간의 영향을 Fig. 2에 나타내었다.

Fig. 2에서 알 수 있는 바와같이 계면활성제와 리파제를 첨가하지 않고 조제만으로 된 세액에서는

침지시간의 변화에 따라 세척성의 증가가 거의 일어나지 않았다. 그러나, 여기에 리파제 200mg/l를 첨가한 경우에 있어서는 침지시간 1시간 까지는 세척성의 변화가 거의 없었으나 그 이상의 시간에서는 세척성의 증가가 크게 일어났다. 이와 같은 결과는 트리팔미틴에 대한 리파제의 작용은 침지시간이 적어도 1시간 이상이 되어야 트리팔미틴을 가수분해시키는데 효과적임을 알 수 있었다.

계면활성제 NPE를 첨가한 경우, 여기에 리파제 100mg/l 혹은 200mg/l를 첨가한 경우의 세척성을 비교해 보면, 계면활성제와 리파제를 첨가하지 않은 경우보다 세척성이 적어도 4배 이상 향상되었고, 리파제의 양이 증가할수록 세척성도 아울러 증가함을 알 수 있었으며, 리파제의 효과는 계면활성제 무첨가시의 효과보다는 크지 않았다. 이러한 결과는 계면활성제만에 의한 트리팔미틴의 제거가 크기 때문으로 여겨진다.

그리하여 리파제의 효과는 계면활성제 무첨가시에 반응시간의 변화에 따른 지방산의 생성량의 관계에서 밝힌 결과와 같은 거동을 나타내었다.

계면활성제 첨가세액의 경우는 리파제 첨가유무와 상관없이 침지시간의 증가와 더불어 트리팔미틴의 세척성이 현저히 증가하였다.

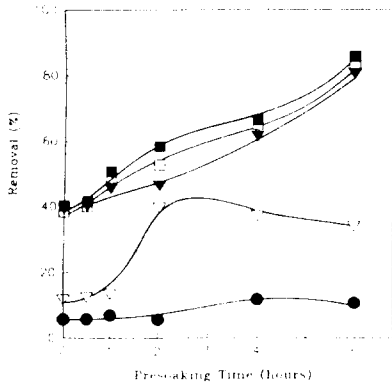


Fig. 2 Effect of presoaking time on the removal of tripalmitin with various detergent solutions. Detergent composition : Na_2SO_4 29%, STPP 40%, Na_2SiO_3 11%, Surfactant(NPE) 20%
 (●) without surfactant and without lipase
 (▽) without surfactant and lipase 200 mg/l
 (▼) without lipase
 (□) lipase 100 mg/l

(■) lipase 200 mg/l

Washing conditions

: pH 10.5
 Temp. $40 \pm 0.1^\circ\text{C}$
 Agitation Speed 40 rpm.
 Washing time 10 min.

3.3 온도의 영향

세척온도가 트리팔미틴 오구포의 세척성에 미치는 영향을 알아보기 위하여, pH 10.5의 세액에서 침지시간 2시간, 세척시간 10분, 교반속도 40rpm으로 하고 세척온도를 25, 30, 40, 50, 60°C로 변화시키면서 세척한 결과를 Fig. 3에 제시하였다.

Fig. 3에서 알 수 있는 바와같이 트리팔미틴의 세척률은 세액에서는 세척온도의 증가와 함께 증가하다가 50°C 이상에서는 일정해졌으며, 세액에 리파제를 첨가한 경우의 세척성은 50°C까지는 증가하다가 감소하였다. 이것은 리파제의 활성이 고온에서는 감소하기 때문에 나타난 결과라 여겨진다. 트리팔미틴의 제거에 대한 리파제의 효과를 보면 세척온도 40°C까지는 리파제를 첨가한 경우 트리팔미틴의 세척률이 증가하였으나 그 이상에서는 리파제 첨가효과가 나타나지 않았고, 60°C에서는 오히려 리파제를 첨가한 세액의 경우가 트리팔미틴의 세척률이 작은 경향을 보였다. 이와 같은 결과는 리파제의 활성이 40°C 이상에서는 감소하여 생긴 것이라 여겨지며, 50°C에서는 활성을 잃어버리니까 세척률이 같아졌고, 60°C에서는 활성을 잃은 리파제가 세척을 방해하는 것으로 보여진다.

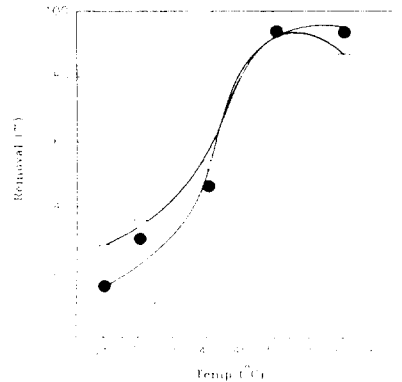


Fig. 3 Effect of temperature on the removal of tripalmitin with various detergent solutions. Detergent composition : Na_2SO_4 29%, STPP 40%, Na_2SiO_3 11%, Surfactant(NPE) 20%
 (●) without lipase
 (▽) lipase 100 mg/l

Washing conditions

: pH 10.5
 Agitation speed 40 rpm.
 Presoaking time 2 hrs.
 Washing time 10 min.

Washing conditions

: Temp. $40 \pm 0.1^\circ\text{C}$
 Agitation speed 40 rpm.
 Presoaking time 2 hrs.
 Washing time 10 min.

3.4 pH의 영향

세액의 pH가 트리팔미틴 오구포의 세척성에 미치는 영향을 알아 보기 위하여, 각 세액에 리파제 100mg/l를 첨가하여 세척온도 40°C, 침지시간 2시간, 세척시간 10분, 교반속도 40rpm에서 세액의 pH를 6.31, 7.00, 8.00, 9.16, 10.50으로 변화시키면서 세척한 결과를 Fig.4에 나타내었다.

Fig. 4에 나타난 바에 의하면 리파제가 첨가되지 않은 pH에 따른 트리팔미틴의 세척률은 대체로 완만한 변화를 나타내었는데 면 섬유를 가지고 한 연구³⁶⁾에서와 같이 pH 7.0, pH 6.31, pH 10.5, pH 9.16, pH 8.0의 순서로 세척성이 감소하였다. 또한 리파제에 의한 트리팔미틴의 제거효과는 pH 10.5에서 가장 크게 나타났는데, 이와같은 결과는 리파제에 의한 트리팔미틴의 가수분해에 관한 전보의 연구에서 반응액의 pH에 따른 팔미트산의 생성량에서 제시했듯이 pH가 증가하면 리파제의 활성이 증가하여 리파제에 의한 트리팔미틴의 가수분해가 촉진되어 생성되는 팔미트산의 양이 많아지게 되고 오구중에 유리 지방산이 많아지면 오구의 극성이 증가하여 액정형성에 의한 오구의 제거가 용이해질 뿐 아니라 세액중의 알칼리에 의한 팔미트산의 비누 형성이 낮은 pH의 세액보다 커져서 트리팔미틴의 제거를 증가시켜 나타난 결과라 여겨진다.

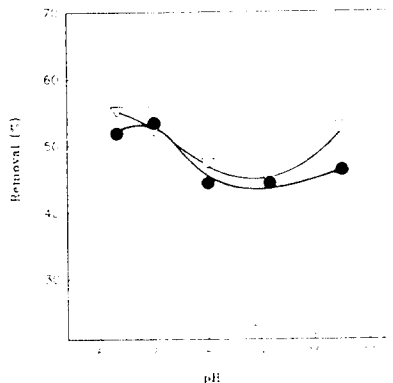


Fig. 4 Effect of pH on the removal of tripalmitin with various detergent solutions. Detergent composition : ref. Table 2.
 (●) without lipase
 (▽) lipase 100 mg/l

3.5 반복세척효과

반복 세척이 리파제에 의한 트리팔미틴오구포의 세척률에 미치는 영향을 알아보기 위하여 한 번 오염시킨 트리팔미틴 오구포를 세척-수세-건조과정을 5회 반복하여, 그 결과를 Fig. 10에 제시하였다. 세척조건은 세액의 pH 10.5, 세척온도 40°C, 침지시간 2시간, 세척시간 10분, 교반속도 40rpm이었다.

Fig. 5에 나타난 바에 의하면 트리팔미틴의 세척성은 리파제 첨가 유무에 상관 없이 세척횟수가 증가할수록 그 효과가 현저히 나타났다. 트리팔미틴의 제거에 대한 리파제의 효과는 세탁횟수가 반복될수록 그 효과가 크게 나타났다. 이것은 세척포대에 가수분해되어 잔존해 있던 모노팔미틴과 디팔미틴이 반복세척에 의해 팔미트산으로 분해됨으로써 트리팔미틴의 제거를 도왔다고 생각된다.

3.6 반복 오염-세척의 영향

실제 의복을 착용하는 경우에는 계속해 오염과 세척을 반복하게 되는데 세척시마다 오구가 완전히 제거되지 않고 축적되게 되므로 축적된 지용성 오구의 제거에 미치는 리파제 첨가효과를 알아보기 위하여 트리팔미틴을 오염시키고, 세척한 후 세척한 오구포에 다시 트리팔미틴을 첫번째와 같이 오염시켜 세척하는 것을 5회 반복하여 반복오염-세척의 횟수에 따른 세척률을 검토하여 Fig. 6에 제시하였다.

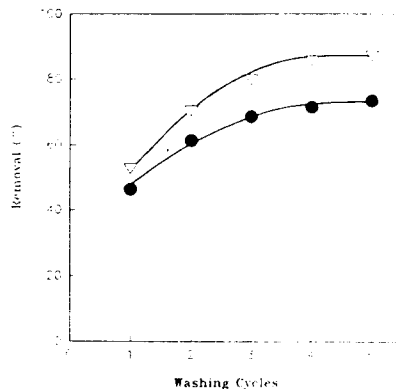


Fig. 5 Effect of washing cycles on the removal of tripalmitin. Detergent composition :

Na₂SO₄ 29%, STPP 40%, Na₂SiO₃ 11%,
 Surfactant(NPE) 20%
 (●) without lipase
 (▽) lipase 100 mg/ℓ

Washing conditions
 : pH 10.5
 Temp. 40 ± 0.1 °C
 Agitation speed 40 rpm.
 Presoaking time 2 hrs.
 Washing time 10 min.

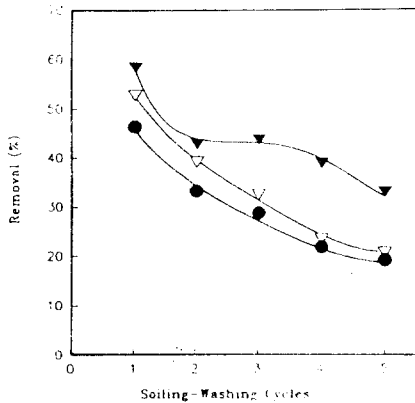


Fig. 6 Effect of soiling-washing cycles on the removal of tripalmitin. Detergent composition :
 Na₂SO₄ 29%, STPP 40%, Na₂SiO₃ 11%,
 Surfactant(NPE) 20%
 (●) without lipase
 (▽) lipase 100 mg/ℓ
 (▼) lipase 200 mg/ℓ

Washing conditions
 : pH 10.5
 Temp. 40 ± 0.1 °C
 Agitation speed 40 rpm.
 Presoaking time 2 hrs.
 Washing time 10 min.

세척은 세척온도 40°C, 세척시간 10분, 침지시간 2시간, 세액의 pH 10.5, 교반속도 40rpm으로 행하였다. 이때의 세척물의 계산은 세척후 세척포에 남아 있는 트리팔미틴 양에 다시오염시킨 트리팔미

틴양을 합하여 세척전 오염량으로 계산하였다.

Fig. 6에 의하면 트리팔미틴의 세척성은 리파제 첨가 유무에 상관없이 모두 반복오염에 의한 세척 횟수가 많아짐에 따라 감소하였으며, 리파제를 첨가한 경우가 첨가하지 않은 경우보다 트리팔미틴의 제거에 더 유효했는데 리파제농도 100mg/ℓ 보다는 200mg/ℓ에서 트리팔미틴의 제거효과가 뚜렷하였다.

세액에 리파제를 200mg/ℓ를 첨가한 경우 리파제의 효과는 세척을 반복할수록 즉, 3회 이상에서 더 크게 나타났으며 세액에 리파제를 200mg/ℓ를 첨가하면 반복오염을 하고 세척횟수를 반복함에 따른 트리팔미틴오염포의 세척성 저하현상을 어느 정도 감소시킬 수 있으며, 축적된 트리팔미틴오염의 제거를 증가시키는데 효과가 있었다. 오염-세척을 반복함에 따라 세척포에 축적된 트리팔미틴의 양을 mg/g polyester로서 Fig. 7에 나타내었다. Fig. 7에 의하면 세액에 리파제를 200mg/ℓ첨가하면 세척을 반복함에 따라 특히 3회이상에서 트리팔미틴 오구의 축적량이 현저히 감소하였다.

이와같은 결과는 반복오염-세척을 되풀이하면 세척포내에 남아있던 트리팔미틴의 가수분해물인 모노팔미틴과 디팔미틴이 반복세척에 의해 지방산으로 가수분해되어 트리팔미틴의 제거를 증가시켰다고 생각된다.

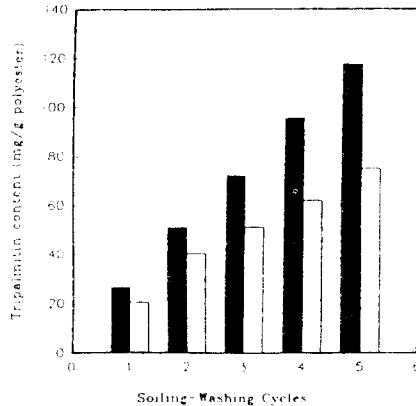


Fig. 7 Effect of soiling-washing cycles on the accumulated tripalmitin on the washed cloth. Detergent composition :
 Na₂SO₄ 29%, STPP 40%, Na₂SiO₃ 11%,
 Surfactant(NPE) 20%
 (■) : without lipase
 (□) : lipase 200 mg/ℓ

Washing conditions

: pH	10.5
Temp.	40±0.1 °C
Agitation speed	40 rpm.
Presoaking time	2 hrs.
Washing time	10 min.

있던 부분 가수분해 생성물인 모노팔미틴과 디팔미틴이 다음 세척과정에서 제거되기 쉬운 팔미트산으로 완전히 분해됨으로써 트리팔미틴의 제거를 용이하게 하고 축적을 줄일 수 있기 때문이다.

4. 결 론

세척과정에서 리파제가 트리팔미틴의 제거에 미치는 효과를 검토하기 위하여, 리파제로는 알칼리 리파제중의 하나인 *Aspergillus oryzae*로부터 얻은 리파제(Lipolase 100T)를 사용하고, 모델오구로 트리팔미틴, 시험포로 폴리에스테르 직물을 사용하여 리파제에 의한 트리팔미틴의 가수분해효율과 이에 따른 리파제에 의한 트리팔미틴의 세척성에 대해 연구하였다.

리파제에 의한 트리팔미틴의 세척성은 리파제농도, 침지시간, 온도, 세액의 pH 등 세척조건과 반복세척 및 반복오염-세척에 의한 트리팔미틴의 축적등을 scintillation counting에 의한 방사분석으로 트리팔미틴의 제거율을 검토하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 트리팔미틴의 제거에 대한 리파제의 효과는 계면활성제를 첨가하지 않은 세액에서 더 뚜렷하게 나타났는데, 이것은 계면활성제에 의해 트리팔미틴의 제거율이 높아서 리파제의 효과가 뚜렷하지 않은 것으로 생각된다. 또 세척과정에서 리파제에 의한 트리팔미틴의 가수분해는 트리팔미틴이 완전히 팔미트산으로 가수분해되는 것이 아니라 부분 가수분해 생성물인 모노팔미틴과 디팔미틴이 오염포내에 상당량 남아 있어서 리파제의 효과가 뚜렷하지 않은 요인으로 생각된다.
계면활성제로는 LAS 보다는 NPE 가 효과가 좋았다.
2. 반복세척 실험 결과 세척횟수가 증가할수록 리파제의 첨가 효과가 현저히 나타났으며, 반복오염-세척실험 결과 리파제 첨가 세제는 트리팔미틴의 축적을 현저히 줄일 수 있었다. 이것은 반복세척에 의해 오염포내에 잔존해

5. 참 고 문 헌

1. O. Röhm, *Ger. Pat.*, 283923 (1913)
2. T. Godfrey and J. Reichelt, *Industrial Enzymology*, The Nature Press, 284, (1983)
3. M. H. Nielsen, S. J. Jepsen and H. Outtrup, *Enzymes for Low Temperature Washing*, *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 58, 644 (1981)
4. C. Dambmann, P. Holm, V. Jensen and M. H. Nielsen, How enzymes got into detergents, *Developments in Industrial Microbiology*, *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 12, 11-13 (1971)
5. F. W. J. L., Maase and R. Van Tilburg, The Benefit of Detergent Enzymes under Changing Washing Conditions., *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 60, 1672 (1983)
6. C.A. Starace, Detergent Enzymes : Developments during the Last Decade., *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 58, 165A (1981)
7. 金聲連, “洗劑와 洗濯의 科學”, 敎文社, 100, (1987)
8. M. Minagawa and I. Okamoto, Removal of Proteins from Fabrics by Protease. (Part 7) : Skin Grime stains Deposited on Clothes., *J. Jpn. Res. Assn. Text. End-Uses*, 19, 106 (1978)
9. M. Minagawa, I. Okamoto and M. Shigeta, Removal of Proteins from fabrics by Protease (Part 8) : Washing of Cotton Cloth Neck Bands Soiled with Skin Grime., *J. Jpn. Res. Assn. Textile End-Uses*, 19, 420 (1978)
10. F. W. J. L. Maase and R. Van Tilburg, The Benefit of Detergenct Enzymes under Changing Washing Conditions., *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 60, 1672 (1983)
11. I. Okamoto and M. Minagawa, Removal of Pro-

- teins from Fabrics by Protease. The Effect of Bacillus Alkaline Protease in Low Temperature Washing., *J. Jpn. Res. Assn. Textile End-Uses*, **28**, 167 (1987)
12. 이정숙, 김성련, 단백질 오염의 세척거동에 관한 연구 (I), *한국의류학회지*, **10**, 1 (1986)
 13. A. Starace, Detergent Enzymes - Past, Present and Future., *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, **60**, 1025 (1983)
 14. M. H. Nielsen, S. J. Jepsen and H. Outtrup, Enzymes for Low Temperature Washing., *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, **58**, 644 (1981)
 15. G. Clements Van Dijk and D. Van den Berg, *German Pat.* 2,164,993 (1972)
 16. E. W. Seitz, Industrial Application of Microbial Lipases : A Review., *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, **51**, 12 (1974)
 17. T. Tatara, T. Fujii and M. Minagawa, 33th Annual Meeting, *Japan Society of Home Economics*, 141 (1981), T. Tatara, T. Fujii and M. Minagawa, 34th Annual Meeting, *Japan Society of Home Economics*, 138 (1982)
 18. T. Tatara, T. Fujii and M. Minagawa, Studies on Applications of Lipolytic Enzyme in Detergency I. Effect of Lipase from *Candida cylindracea* on Removal of Olive Oil from Cotton Fabric., *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, **63**, 796 (1986)
 19. Y. Kokusho, H. Machida and S. Iwasaki, Studies on Alkaline Lipase : Isolation and Identification of Lipase producing., *Agric. Biol. Chem.*, **46**, 1159-1164 (1982)
 20. W. C. Shin, K. S. Jeong, J. H. Yu and J. H. Yu, Purification and Properties of Alkaline Lipase from *Pseudomonas* sp. J-19., *Kor. J. Appl. Microbial. Biotechnol.*, **19**, 57 (1991)
 21. K. Umehara, Y. Masago, T. Mukaiyama and O. Okumura, Behavior of Alkaline Lipase on Detergency., *J. Jpn. Oil Chem. Soc.*, **39**, 321 (1990)
 22. T. Tatara, T. Fujii, T. Kawase and M. Minagawa, Studies on Applications of Lipolytic Enzymes in Detergency II. Evaluation of Adaptability of Various Kinds of Lipases in Practical Laundry Conditions., *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, **62**, 1053 (1985)
 23. T. Hashimoto, T. Fujii, T. Kawase and M. Minagawa, Studies on Application of Lipolytic Enzymes in Detergency III. Removal of Triolein and its Hydrolysates from Cotton Fabric., *J. Jpn. Oil Chem. Soc.*, **34**, 606 (1985)
 24. T. Hashimoto, T. Fujii and M. Minagawa, Studies on Applications of Lipolytic Enzymes in Detergency IV. Effect of Lipase on Removal of Saturated Triacylglycerol from Cotton Fabric., *J. Jpn. Oil Chem. Soc.*, **35**, 293 (1986)
 25. 坂口 博修, 리파제의 새로운展開 脚光あびる洗剤への應用., *油脂*, **42**, 59 (1989)
 26. H. Andree, W. R. Miller and R. D. Schmid, Lipases as Detergent Components., *J. Appl. Biochem.*, **2**, 218 (1980)
 27. 岩井 美枝子, 酵素리파제의基礎と應用, 리파제利用의 問題點(I)., *油脂*, **42**, 84 (1989)
 28. T. Fujii, W. S. Kim, T. Kawase and M. Minagawa, Removal of Fatty soil by Lipase-Detergent Systems II. Hydrolysis and Solubilization of Triolein., *J. Jpn. Oil Chem. Soc.*, **37**, 280 (1988)
 29. T. Kawase, H. Maeda, T. Fujii and M. Minagawa, Studies on Applications of Lipolytic Enzymes in Detergency V. Effect of Hydrolysis Degrees on Removal of Triolein from Cotton Fabric., *J. Jpn. Oil Chem. Soc.*, **37**, 625 (1988)
 30. T. Hashimoto, T. Fujii, T. Kawase and M. Minagawa, Studies on the Effects of Surfactants on Lipase Activity., *J. Jpn. Oil Chem. Soc.*, **34**, 530 (1985)
 31. M. Sato, J. Ohe, T. Nishida and M. Minagawa, Studies on the Detergency of Phosphate-Free Detergents for Home-Use Part 7 : Oily Soil Removal in the Formulation of Protease and Lipase., *J. Jpn. Res. Assn. End-Uses*, **29**, 146 (1988)

32. W. S. Kim, T. Kawase, T. Fujii and M. Minagawa, Interaction between Lipolytic Enzyme and Detergents, *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, **63**, 459 (1986)
33. W. S. Kim, T. Kawase, T. Fujii and M. Minagawa, Removal of Fatty Soil by Lipase-Detergent Systems I. Solubilization of Squalane., *J. Jpn. Oil Chem. Soc.*, **36**, 200 (1987)
34. E. Gormsen and B. S. Olesen, *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, **66**, 19, (1989)
35. D. Aaslyng, E. Gormsen & O. Malmos, Mechanistic Studies of Proteases and Lipases for the Detergent Industry., *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, **50**, 321 (1991)
36. 이난형, 김성련, "세척계에서의 표백제의 첨가가 세척성에 미치는 영향에 대한 연구", *생활과학 연구*, **14**, 63 (1989)