

Alkaline Inducing Agent 및 Alkaline Proteolytic Enzyme 혼용처리에 의한 Shaving Scraps 가수분해 단백질의 제조 및 특성

김원주, 조주식, 이홍재, 허종수

경상대학교 농화학과, *순천대학교 농화학과

Preparation and Characterization of the Hydrolyzed Protein from Shaving Scraps of Leather Waste Containing Chromium by the Combination Treatment with Alkaline Inducing Agent and Alkaline Proteolytic Enzyme

Won-Ju Kim, Ju-Sik Cho,* Hong-Jae Lee, Jong-Soo Heo

Dept. of Agricultural Chemistry, Gyeongsang National University, Chin Ju 660-701, Korea

*Dept. of Agricultural Chemistry, Sunchon National University, Sunchon 540-742, Korea

ABSTRACT

To examine the possibility of protein recycling of shaving scraps containing chromium generated from manufacturing process of leather, the optimum hydrolysis conditions and the withdrawal methods of low molecular weight protein for using the liquid fertilizer sources by investigation of solubilities of hydrolyzed protein, inorganic nutrients contents and molecular weight distributions of hydrolyzed protein from shaving scraps treated with mixed alkaline inducing agents and mixed alkaline proteolytic enzymes including MgO were investigated.

In hydrolysis of shaving scraps treated with mixed alkaline inducing agents, the solubility of shaving scraps were clearly different with 65~85% according to the sorts of the inducing agents, and the degree of hydrolysis was high in the order of NaOH, Ca(OH)₂ and KOH. The average molecular weights of withdrawal hydrolyzed protein were 10, 40 and 80 KD treated with NaOH, Ca(OH)₂ and KOH, respectively. And the chromium contents was about 15 ppm.

In hydrolysis of shaving scraps treated with mixed alkaline proteolytic enzymes, the solubility of shaving scraps were high in the order of alcalase, esperase and savinase. In case of treating 0.5% alcalase, the low molecular weight of hydrolyzed protein could be withdrawn. The solubility of the hydrolyzed protein was about 85%, the average molecular weight of the protein was below 1 KD and chrome content of the protein was below 10 ppm.

Key words : shaving scrap, alkaline inducing agents, alkaline proteolytic enzymes, solubility, hydrolyzed protein, molecular weight.

초 록

피혁제조시 발생하는 크롬을 함유한 피혁 고형폐기물인 shaving scrap의 단백질 자원화 가능성을 검토하기 위하여 MgO를 기본으로 하여 alkaline inducing agents 및 alkaline proteolytic enzymes을 혼용처리하여 shaving scrap으로 부터 회수한 가수분해 단백질의 용해도, 무기성분 함량, 분자량 분포 등을 비교 검토함으로써 최적 가수분해 조건 및 액체비료의 원료로 활용하기 위한 저분자 단백질의 회수방안을 조사한 결과는 다음과 같다.

Alkaline inducing agents의 혼용처리에 의한 shaving scrap의 가수분해 실험결과 7% MgO를 기본으로 하여 alkaline inducing agents 종류에 따라 65~85% 범위로 용해도 차이가 뚜렷하였으며, 가수분해되는 정도는 NaOH>Ca(OH)₂>KOH순으로 나타났으며, 획득된 hydrolyzed protein의 평균분자량은 NaOH처리시 약 10 KD, Ca(OH)₂ 처리시 약 40 KD, KOH처리시 약 80 KD이었으며, 크롬함유량은 약 15 ppm이었다.

Alkaline proteolytic enzymes의 혼용처리에 의한 shaving scrap의 가수분해 실험결과 alkaline proteolytic enzymes 종류에 따라 Alcalase>Esperase>Savinase순으로 용해도 차이를 보였으며, 0.5% Alcalase의 처리에 의해 용해도 85%수준, 평균분자량 1 KD 미만, 크롬 함유량 10 ppm 이하인 저분자 형태의 hydrolyzed protein을 획득할 수 있었다.

핵심용어 : shaving scrap, alkaline inducing agents, alkaline proteolytic enzymes, 가수분해 단백질, 용해도, 분자량 분포

1. 서 론

피혁폐기물은 피혁을 제조하는 과정에서 발생하는 공정 폐기물과 피혁폐수 처리시 발생하는 피혁 sludge로 나눌 수 있으며(Niwa *et al.*, 1981), 피혁제조 공정중에 발생하는 폐기물중

Cr을 함유하고 있는 shaving scrap은 최초 원료 무게 대비 50% 이상의 수분을 함유하고 있으며 나머지 대부분은 섬유상 단백질인 collagen protein으로 구성되어 있다.

Shaving scrap은 주요 구성성분이 collagen protein이면서 유제과정(tanning process)을 거쳐 생성된 피혁공정 폐기물로서 화학적으로

아미노산내 carboxyl group과 Cr이 배위결합하고 있다(송계원 등, 1990).

Shaving scrap은 이미 오래전부터 신발용 중창 원료인 leatherboard로 활용되는 이외에 거의 대부분 단순 매립 또는 소각처리되고 있으며, 폐기처리되는 과정에서 산화되어 6가 Cr으로 전환될 가능성이 매우 높으며, 특히 매립시 Cr으로 인한 토양미생물의 생육이 불량하여 피혁폐기물의 분해속도가 늦어지며, 매립후 토양중에서 5년 정도 경과되면 약 1/3 가량이 용탈 현상이 일어나는 것으로 보고되고 있다(한환수 등, 1988).

Cr을 함유하고 있는 shaving scrap의 종래의 처리방법은 단순히 토양매립하는 방법, 에너지원으로 이용하고자 소각처리하는 방법 및 modified protein으로 합성하여 biopolymer로 재활용하는 방법 등 3가지 방법이 알려져 있다(Okamura *et al.*, 1994).

최근 피혁선진국인 일본, 이태리 등에서는 피혁 전문연구소를 중심으로 Cr을 다량 함유한 shaving scrap의 이용에 대하여 심도있게 연구되고 있는 바 공업용 젤라틴의 제조, collagen 섬유에 의한 부직포 제조, coating 처리제 제조, 음향 관련기기 복합소재 등 다방면으로 활용하고자 실험 연구중이거나 실용화 단계에 있는 것으로 알려져 있다(Okamura, 1978, 1979; Ishihara *et al.*, 1980).

특히 젤라틴제조에 관련된 가수분해된 단백질의 회수방법에 관한 연구는 상당히 관심있는 연구분야로 pH 및 온도 조건에 따라 산처리 하는 방법과 알카리 처리하는 방법 또는 효소 처리에 의한 방법 등이 알려져 있으나 아직까지 추출공정 시간이 길고 복잡하며 완벽한 Cr 제거기술이 미흡하고 단백질의 회수율 또한 저조하여 여러가지 보완책이 요구되므로 경제성이 뒤떨어지는 것으로 알려져 있다(Taylor *et al.*, 1992, 1993).

미국의 Pfister & Vogel 社の 경우 2~3년 전부터 shaving scrap으로부터 분자량이 높고 점도가 뛰어난 gelable protein을 획득하고자 Cr을 제거하기 위한 기술개발에 착수하여 shaving scrap의 효율적인 이용에 관하여 연구해 왔으며 어느 정도 실제 실용화 단계에 돌입해 있는 것으로 보고되고 있다(Brown *et al.*, 1994; Danies, 1995).

Taylor 등(1992, 1993)은 종전 one step 방식인 Okamoto 등(1985)의 방식을 개선하여 two step방식을 택하였으며 MgO를 기본으로 하여 다양한 alkaline inducing agents를 이용하여 gelable protein을 1차로 추출한 다음 alkaline proteolytic enzyme을 소량 첨가하여 2차로 hydrolyzed protein을 얻는 데 성공하였으며 이들 단백질 자원을 이용하여 유기질 액체 비료로 제조하여 골프장내 가장 중요한 부분을 차지하고 있는 green course를 조성하기 위한 잔디관리제(grass conditioner)로 상품화에 성공한 사례(Herlihy *et al.*, 1996)가 연구 발표되었다.

국내에서도 간혹 유기질비료나 퇴비화하기 위하여 피혁 sludge를 배합처리하여 부숙시키거나 shaving scrap를 감압증기 처리후 건조, 분쇄하여 중제 피혁분 유기질비료로 농가에 보급하고 있으나 Cr 화합물의 제거기술이 부족하여 Cr이 10,000 ppm 이상 함유되어 있기 때문에 작물의 피해 사례가 속출하고 있어 부작용이 매우 높은 것으로 보고되고 있다(정광용, 1995a, b).

따라서 환경보전형 농업의 일환으로 화학비료의 사용량을 최대한 줄이고 유기농법 및 자연농법에 의한 선진농업을 추구하고자 하는 이 시점에 피혁폐기물과 같은 유기성 폐기물을 물리·화학적 또는 생화학적 처리에 의해 식물의 영양적인 요소를 부가한 양질의 유기질비료로서의

그 이용가능성은 연구 검토되어야 할 것으로 전망된다.

본 연구는 피혁제조시 발생하는 피혁 고품폐기물인 shaving scrap의 단백질 자원화 가능성을 검토하고자 MgO를 기본으로 하여 alkaline inducing agents 및 alkaline proteolytic enzymes을 혼용처리하여 shaving scrap으로 부터 회수한 가수분해 단백질의 용해도, 무기성분 함량, 분자량 분포 등을 비교 검토함으로써 최적 가수분해 조건 및 액체비료의 원료로 활용하기 위한 저분자 단백질의 회수방안을 조사하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 Shaving scraps

본 실험에 사용한 공시 피혁폐기물은 부산광역시 신평·장림공단내 피혁제조업체에서 shaving machine을 이용하여 두께를 균일하게 조절하고자 피혁원단(靑革, wet blue) 뒷면을 깎아내는 과정에서 발생한 shaving scap을 수거하여 Tomas-Willy형 cutting mill에서 1~2 mm의 크기로 20~30분 잘게 분쇄한 다음 24시간 수침시킨 후 원심분리형 탈수기에서 5분간 탈수시켜 사용하였으며, 그 이화학적 특성은 전보(김원주 등, 1997)와 같다.

2.2 Alkaline inducing agents

Alkaline inducing agents는 MgO를 기본으로 하여 Ca(OH)₂, KOH, K₂CO₃, NaOH, Na₂CO₃ 등 알카리금속 계통의 화합물을 사용하였으며, 2차 증류수에 녹인 수용액 상태에서 dropping funnel을 통해 실험에 필요한 만큼 반응기에 주입하고, shaving scrap 및 alkaline inducing agents를 혼합하기 위하여 180 rpm의 속도로 교반하면서 가수분해시켰다.

2.3 Alkaline proteolytic enzymes

단백질 분해효소는 serine type의 alkaline protease계통의 Savinase, Esperase 및 Alcalase (Novo Nordisk, Ltd.)를 사용하였으며, 그 특성은 Table 1과 같다. 효소의 활성검정은 dimethyl casein (DMC)을 기질로 사용하였으며, 50°C의 온도에 pH 8.3의 조건으로 하였다.

Table 1. Characteristics of alkaline proteolytic enzymes used in the experiment

Alkaline protease	Sources	Optimum condition	
		pH	Temperature
Savinase	<i>Bacillus</i> sp.	9.0~10.0	50~60°C
Esperase	<i>Bacillus</i> sp.	8.5~9.5	55~65°C
Alcalase	<i>Bacillus</i> sp.	8.0~9.0	55~65°C

2.4 Shaving scrap 가수분해 단백질의 제조

Hydrolyzed protein의 제조를 위한 shaving scrap의 가수분해방법은 500 ml 용량의 3구 플라스크 상부에 냉각 condensor, 온도계 및 교반기가 설치된 전보(김원주 등, 1997)에서와 동일한 장치를 사용하였으며, 분쇄된 shaving scrap 50 g을 투입하고 처리온도에 맞는 증류수 250 ml를 넣고 5분간 예비 교반한 다음 원료 무게 대비 각각에 알카리금속(IA-Na⁺, K⁺, IIA-Mg⁺², Ca⁺²) 종류별로 첨가하되 1.0%~7.0%의 MgO 조건하에서 0.5%~3.0% alkaline inducing agents 및 0.5%~1.0% alkaline proteolytic enzymes을 단독 및 혼합 처리에 의해 shaving scrap을 가수분해시켰다.

가수분해된 단백질의 회수는 전보(김원주 등, 1997)와 같은 방법으로 하였으며, alkaline inducing agents의 처리조건은 Table 2와 같다.

Table 2. The chemicals used to induce alkaline condition

Elements	Alkaline inducing agents	Content(%)
Mg ⁺⁺	MgO	1.0~7.0
K ⁺	KOH / K ₂ CO ₃	0.5~3.0
Na ⁺	NaOH / Na ₂ CO ₃	0.5~3.0
Ca ⁺⁺	Ca(OH) ₂	0.5~3.0

2.5 Shaving scraps 가수분해 단백질의 특성

Shaving scraps으로 부터 회수한 가수분해 단백질의 용해도 변화, 무기성분 함량 및 분자량 분포등의 특성 조사는 전보(김원주 등, 1997)와 동일한 방법으로 하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 Alkaline inducing agents 혼용처리에 의한 shaving scrap 가수분해 단백질의 특성

3.1.1 용해도 변화

식물의 필수 무기영양원소중 질소(N), 황(S), 인(P), 칼슘(Ca), 칼륨(K), 마그네슘(Mg), 철(Fe) 등은 염의 형태로 공급되지 않으면 녹색식물은 정상적인 발육을 할 수 없다는 사실을 근거로 7% MgO를 기본으로 하여 필수 영양원소에 영향을 미치는 Ca, Na 및 K이온과 관련이 있는 Ca(OH)₂, NaOH 및 KOH를 alkaline inducing agents로 처리하여 shaving scrap을 알칼리가수분해시킨 다음 shaving scrap의 용해도를 측정된 결과는 Fig. 1과 같다.

Alkaline inducing agents처리에 따른 shaving scrap의 가수분해정도는 alkaline inducing agents 종류에 따라 용해도 차이가 뚜렷하게 나타났으며 가수분해되는 정도는 NaOH > Ca(OH)₂ > KOH순으로 나타났다. 이러한 현상은 Hofmeister 또는 Lyotropic series (Kunt-

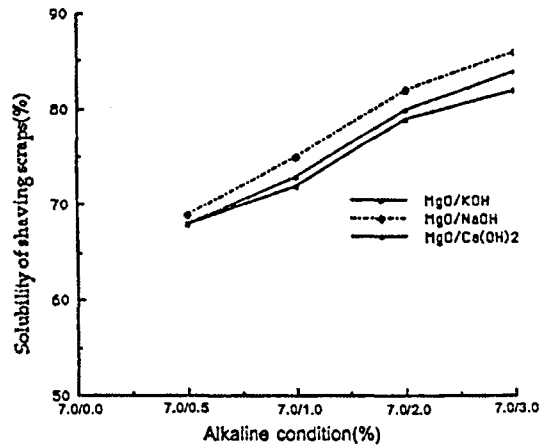


Fig. 1. The solubility of shaving scraps treated with different alkaline conditions in the presence of 7% MgO.

zel *et al.*, 1956; Herfeld *et al.*, 1966), 즉 단백질내 중성염의 팽윤현상(swelling effect)과 어느정도 관련이 있는 것으로 특히 양이온의 경우 Ca > Sr > Ba > Mg > Li > NH₃ > Na > K 이온의 순으로 팽윤을 촉진시키므로 alkaline inducing agents처리는 shaving scrap내 collagen protein의 peptide chain이 원활하게 끊어져 가수분해시키는 데 어느 정도 영향을 미친 것으로 판단되었다.

3.1.2 무기성분 함량

Alkaline inducing agents 혼용처리에 따른 hydrolyzed protein내의 무기물 함량변화는 Table 3에서 보는 바와 같다. Cr의 경우 세 가지 alkaline inducing agents 혼용처리 모두에서 약 14~15 ppm 수준으로 낮게 나타나 전보(김원주 등, 1997)에서 조사한 MgO만 단독으로 처리하였을 경우에 비하여 두배 이상 제거된 것으로 나타났으며, 이는 반응기 내부의 pH가 8.5 이상으로 상승하여 화학적으로 Cr₂(SO₄)₃ 형태의 수용성 크롬에서 Cr(OH)₃ 형태의 불용

성 크롬으로 전환되어 1차 및 2차 여과처리시 chrome cake로 쉽게 분리되어 제거되었기 때문인 것으로 판단되었다.

그러나 Mg 및 Ca이온의 경우에는 전보(김원주 등, 1997)에서의 MgO만 단독으로 처리하였을 경우에 비하여 증가되었으나 큰 차이가 없는 것으로 나타나 화학적으로 물에 대한 용해도가 낮아 불용성 chrome cake와 mixtures 화합물을 형성, 혼합되어 여과시 상등액에 잔존하였기 때문인 것으로 추측되며, Na와 K이온의 경우에는 alkaline inducing agents로서 NaOH와 KOH를 각각 처리하였을 때 전보(김원주 등, 1997)의 MgO 단독처리의 경우에 비해 크게 증가함을 알 수 있었는데 이는 Na, K이온이 수용성 형태로 hydrolyzed protein내 용해된 것으로 추측되었다.

이와 같은 사실로 볼때 alkaline condition에 따른 hydrolyzed protein내 무기물 함량의 정도는 shaving scrap의 가수분해 처리조건에 따라 비례하는 것을 알 수 있으며 따라서 Taylor 방식(Taylor *et al.*, 1993)을 이용하여 alkaline proteolytic enzymes을 활용하는 방안과 MgO를 기본으로 하여 적은 양의 alkaline inducing agents를 유효적절하게 사용하여 가수분해시키는 방안이 hydrolyzed protein내 무기물 함량을 상당량 줄이는데 유리할 것으로 판단되었다.

3. 1. 3 분자량 분포

7% MgO를 기본으로 하여 alkaline inducing agents인 NaOH, KOH 및 Ca(OH)₂를 각각 3%의 동일 함량으로 처리하여 shaving scrap으로 부터 회수한 hydrolyzed protein의 평균 분자량 분포는 Fig. 2에서 보는 바와 같이 7% MgO와 3% NaOH의 혼용처리시 (Fig. 2A) 약 10 KD, 7% MgO와 3% Ca(OH)₂ 혼용처리시 (Fig. 2B) 약 40 KD, 7% MgO와 3% KOH 혼용처리시 (Fig. 2C) 약 80 KD로서 전보(김원주 등, 1997)에서의 MgO만 단독으로 처리하였을 경우에 비하여 저분자화된 것으로 나타났으며 alkaline inducing agents 종류에 따른 단백질의 저분자화 정도는 NaOH>Ca(OH)₂>KOH순으로서 가수분해되는 정도, 즉 용해도가 클수록 (Fig. 1) 저분자의 단백질을 획득할 수 있었다.

특히 7% MgO와 3% NaOH를 처리하여 회수한 hydrolyzed protein의 분자량 범위 (Fig. 2A)는 타 alkaline inducing agents를 처리하였을 경우에 비하여 GPC peak가 좁고 sharp하게 나타났으며, 대부분 평균 분자량 근처에서 hydrolyzed protein이 50% 이상 존재함을 알 수 있었다.

3. 2 Alkaline proteolytic enzymes 혼용처리에 의한 shaving scrap 가수분해 단백질의 특성

Table 3. The elemental compositions of hydrolyzed protein extracted from shaving scraps under the various alkaline conditions (Unit : mg/kg)

Alkaline conditions	Cr	Mg	Ca	Na	K
7.0% MgO + 3.0% NaOH	15	19,463	14,991	40,384	-
7.0% MgO + 3.0% KOH	14	21,324	15,085	4,753	32,850
7.0% MgO + 3.0% Ca(OH) ₂	15	18,729	19,076	5,506	-

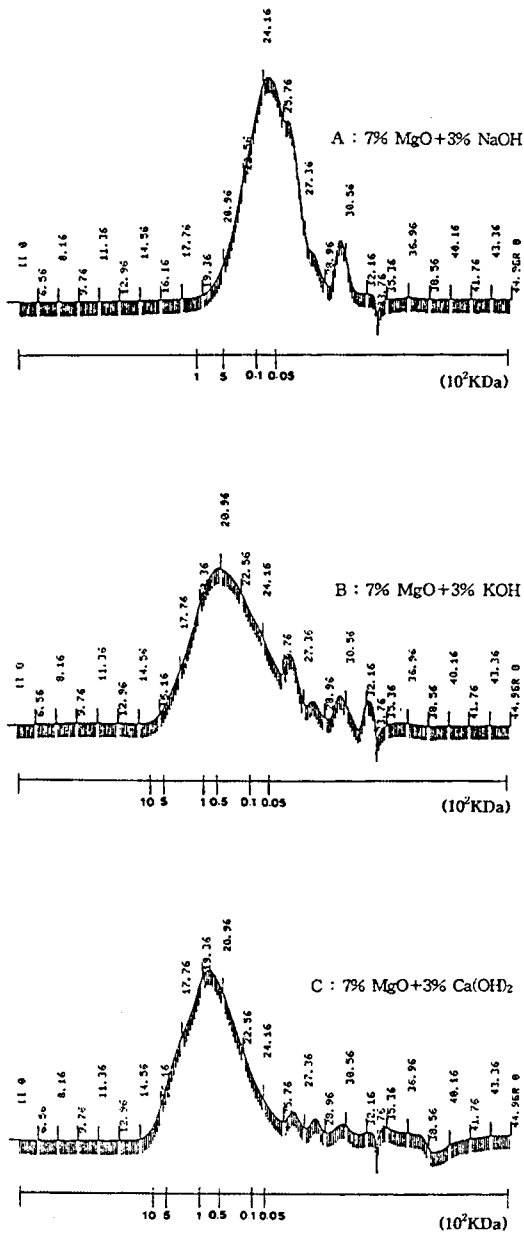


Fig. 2. The molecular weight distributions of hydrolyzed protein extracted from shaving scraps in the presence of 7% MgO+3% NaOH(A), 7% MgO+3% KOH(B) and 7% MgO+3% Ca(OH)₂(C).

- A : 7% MgO+3% NaOH
- B : 7% MgO+3% KOH
- C : 7% MgO+3% Ca(OH)₂

3. 2. 1 용해도 변화

Shaving scrap으로 부터 hydrolyzed protein을 효율적으로 회수하기 위하여 alkaline proteolytic enzymes으로서 Alcalase, Savinase 및 Esperase를 처리하여 hydrolyzed protein의 회수율을 검토하였으며, 이들 3종류의 protease는 serine type의 endopeptidase계통으로 활성 최적조건은 전반적으로 pH 8.0~9.5, 온도 55~65°C이며 입자형태로 상품화된 단백질 가수분해 효소이다.

6% MgO를 기본으로 하여 3종류의 alkaline proteolytic enzymes을 1% 사용하여 shaving scrap의 용해도를 조사한 결과는 Fig. 3에서 보는 바와 같이 단백질 분해효소 종류별 활성도는 Alcalase>Esperase>Savinase순으로 나타났으며, shaving scrap의 용해도는 세가지 protease 모두 약 75% 이상으로 높게 나타나 전보(김원주 등, 1997)에서의 MgO만 단독 처리하였을 경우에 비하여 가수분해 효율이 약 15% 이상 증가되었다.

효소의 활성은 hydrolysis time 60분까지는

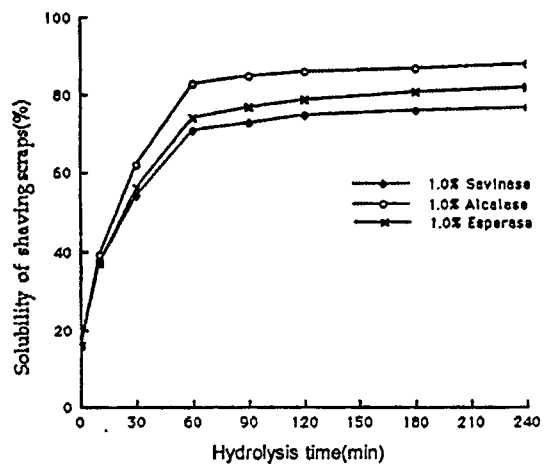


Fig. 3. The solubility of shaving scraps according to hydrolysis time. The shaving scraps were treated with 1% proteolytic enzyme and 6% MgO.

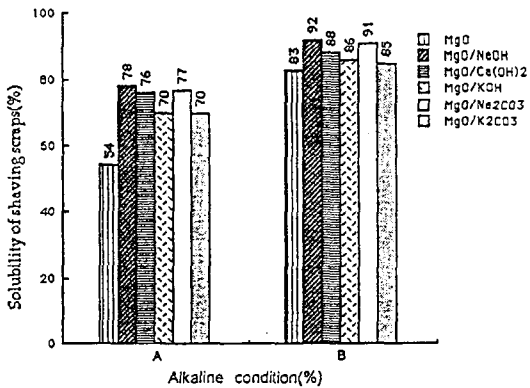


Fig. 4. The solubility of shaving scraps treated with different alkaline conditions in the presence of 0.5% Alcalase.
 A : 3% MgO+0.5% alkaline inducing agents+ 0.5% Alcalase.
 B : 6% MgO+0.5% alkaline inducing agents+ 0.5% Alcalase.

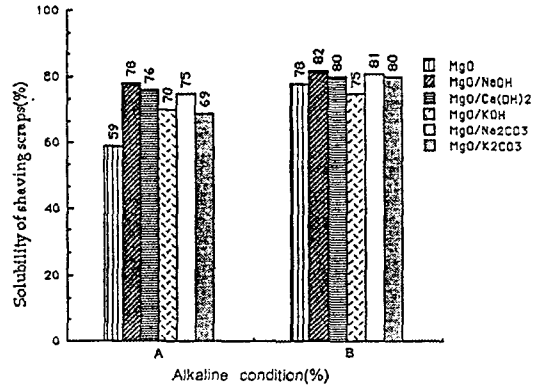


Fig. 6. The solubility of shaving scraps treated with different alkaline conditions in the presence of 0.5% Esperase.
 A : 3% MgO+0.5% alkaline inducing agents+ 0.5% Esperase
 B : 6% MgO+0.5% alkaline inducing agents+ 0.5% Esperase

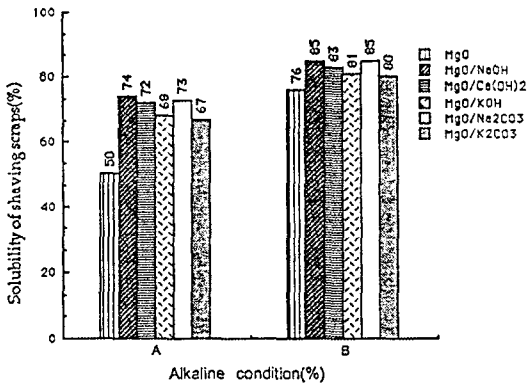


Fig. 5. The solubility of shaving scraps treated with different alkaline conditions in the presence of 0.5% Savinase.
 A : 3% MgO+0.5% alkaline inducing agents+ 0.5% Savinase.
 B : 6% MgO+0.5% alkaline inducing agents+ 0.5% Savinase.

활발하게 지속적으로 증가되었으나 60분 이후 부터는 거의 변화없이 일정한 수준을 유지하는 것으로 나타나 protease의 처리는 가수분해 효

율을 증진시킬 뿐만 아니라 가수분해 시간도 단축시킬 수 있음을 알 수 있었다.

그리고 3% MgO 및 6% MgO를 기본으로 하여 여러 가지 alkaline inducing agents 및 alkaline proteolytic enzymes을 각각 0.5%씩 혼용처리하여 가수분해 정도를 조사한 결과는 Fig. 4, 5 및 6과 같이 3% MgO와 0.5% alkaline inducing agents 및 0.5% alkaline proteolytic enzymes을 혼용 처리한 경우 전반적으로 약 68~75% 정도의 가수분해율을 나타낸 반면에 6% MgO와 0.5% alkaline inducing agents 및 0.5% alkaline proteolytic enzymes을 혼용 처리한 경우에는 효소의 적정 pH 범위에 접근한 조건이므로 80~90% 수준을 증가하는 높은 용해도를 나타내었으며, 이러한 이유는 MgO 농도 증가에 의한 반응기내의 pH가 alkaline proteolytic enzymes들의 최적활성 pH인 8.0~9.5 범위로 상승되었기 때문인 것으로 생각되었다.

그리고 alkaline inducing agents 종류에 따

른 용해도는 NaOH와 Na₂CO₃를 처리하였을 경우에 전반적으로 높았다.

3. 2. 2 무기성분 함량

6% MgO를 기본으로 하고 0.5%의 alkaline inducing agents와 0.5%의 alkaline proteolytic enzymes을 혼용 처리했을 때 shaving scrap으로 부터 회수된 hydrolyzed protein내 함유하고 있는 무기물 함량은 Table 4에서 보는 바와 같이 Cr은 15 ppm내외, Mg는 18,000~20,000 ppm 범위였다.

Mg을 비롯한 Ca, Na 및 K 이온의 hydrolyzed protein내 함량은 각 alkaline inducing agents의 처리함량에 따라 비례적으로 감소하므로 filtration과 같은 물리적인 방법이 아닌 ion exchange resin을 이용하는 방법 또는 chelate에 의한 무기화합물의 흡착·제거하는 방법 등 다양한 화학적인 방법이 도입되어야 할 것으로 사료되었다.

3. 2. 3 분자량 분포

Single triple helical구조를 지닌 우피 단백질(bovine collagen)은 평균 분자량이 277 KD 정도이며, 외적인 영향으로 gelatin화 되는데 대부분 분자크기가 적게는 100 KD에서 크게는

1,000 KD에 이르는 것으로 알려져 있다. Gelatin은 분자량 크기에 따라 large crosslinked aggregates (190 KD 이상), large fragments (95~190 KD), intermediate sized fragments (50~95 KD) 및 small fragments (50 KD 이하)의 4가지 type으로 분류된다.

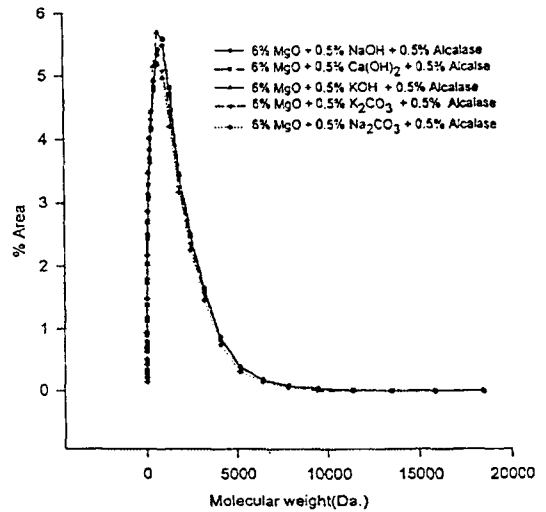


Fig. 7. The molecular weight distributions of hydrolyzed protein extracted from shaving scraps treated with different alkaline conditions in the presence of 0.5% Alcalase.

Table 4. The elemental compositions of hydrolyzed protein extracted from shaving scraps under the various alkaline conditions (Unit : mg/kg)

Alkaline conditions	Cr	Mg	Ca	Na	K
6.0% MgO+0.5% NaOH+0.5%Alcalase	13	20,209	1,502	11,604	-
6.0% MgO+0.5% Ca(OH) ₂ +0.5%Alcalase	17	18,074	10,675	5,891	-
6.0% MgO+0.5% KOH+0.5%Alcalase	15	18,836	5,856	6,202	5,239
6.0% MgO+0.5% Na ₂ CO ₃ +0.5%Alcalase	7	17,941	2,018	9,018	-
6.0% MgO+0.5% K ₂ CO ₃ +0.5%Alcalase	9	19,792	4,121	5,332	3,902

Table 5. The molecular weight distributions of hydrolyzed protein extracted from shaving scraps (Unit : %)

Alkaline conditions	≥5KD	10KD	50KD	100KD	≤100KD
MgO	6±2	2±2	37±8	25±2	30±2
MgO/Hydroxide	8±8	8±12	38±10	25±4	21±6
MgO/Carbonate	6±4	8±10	40±8	26±6	20±4
MgO/Hydroxide/ Protease	98±2	1.5±0.5	0.5±0.1	-	-
MgO/Carbonate /Protease	99±1	0.9±0.2	0.1±0.1	-	-

6% MgO를 기본으로하여 0.5% alkaline inducing agents 및 0.5% alkaline proteolytic enzyme처리에 따른 hydrolyzed protein의 분자량 분포는 Fig. 7에서 보는 바와 같이 GPC peak는 대단히 좁은 범위의 sharp한 곡선을 이루고 있으며 약 90% 이상이 평균 분자량 1 KD 미만의 아주 작은 저분자의 hydrolyzed protein으로 구성되어 있음을 확실하게 알 수 있었다.

그리고 전보(김원주 등, 1997)에서의 MgO만 단독처리 하였을 경우와 MgO+alkaline inducing agents (Fig. 2) 그리고 MgO+alkaline inducing agents+protease를 혼용처리 (Fig. 7) 하였을 경우의 hydrolyzed protein의 분자량 분포를 비교한 결과는 Table 5에서 보는 바와 같이 MgO 단독 및 MgO+alkaline inducing agents 혼용처리에서는 약 85~92% 이상이 분자량 50 KD 이상의 large fragment를 이루고 있었으나 MgO+alkaline inducing agents+protease 혼용처리에서는 약 99% 이상이 분자량 5 KD 이하의 small fragment를 이루고 있었다.

4. 결 론

본 연구는 피혁제조시 발생하는 크롬을 함유한 피혁 고형폐기물인 shaving scrap의 단백질 자원화 가능성을 검토하고자 MgO를 기본으로

하여 alkaline inducing agents 및 alkaline proteolytic enzymes을 혼용처리하여 shaving scrap으로 부터 회수한 가수분해 단백질의 용해도, 무기성분 함량, 분자량 분포 등을 비교 검토함으로써 최적 가수분해 조건 및 액체비료의 원료로 활용하기 위한 저분자 단백질의 회수방안을 조사한 결과는 다음과 같다.

1. Alkaline inducing agents의 혼용처리에 의한 shaving scrap의 가수분해시 alkaline inducing agents 종류에 따라 65~85%범위로 용해도 차이가 뚜렷하였으며, 가수분해되는 정도는 NaOH>Ca(OH)₂>KOH순이었다. 이때 획득된 hydrolyzed protein내 크롬함유량은 약 15 ppm이었으며, 평균분자량은 NaOH처리시 약 10 KD, Ca(OH)₂ 처리시 약 40 KD, KOH 처리시 약 80 KD로서 용해도가 클수록 저분자의 단백질이 획득되었으며, alkaline inducing agents 처리는 shaving scrap내 collagen protein의 peptide chain이 원활하게 끊어져 가수분해 시키는데 어느 정도 영향을 미친 것으로 판단되었다.
2. Alkaline proteolytic enzymes의 혼용처리에 의한 shaving scrap의 가수분해시 protease 처리는 가수분해 효율을 증진시킬 뿐만 아니라 가수분해 시간도 단축되었으며, 가수분해되는 정도는 alkaline

proteolytic enzymes 종류에 따라 Alcalase > Esperase > Savinase 순이었고, 0.5% Alcalase의 처리에서 용해도 85% 수준, 평균분자량 1 KD 미만, 크롬 함유량 10 ppm 이하인 저분자 형태의 hydrolyzed protein을 획득할 수 있었다.

참 고 문 헌

- 김원주, 조주식, 이홍재, 허종수(1997), 피혁 폐기물인 shaving scraps으로 부터 가수분해 단백질의 제조 및 특성. 한국유기성폐자원학회지, 투고중.
- 송계원의(1990), 피혁과 모피의 과학. 선진출판사 : 80-140.
- 정광용(1995a), 산업부산물의 농업적 이용과 유기자연농업 기술지도 방안. 강원도 유기자연농업 실천방안 심포지엄. : 11-54.
- 정광용(1995b), 유기질 및 부산물비료 활용상의 실제. '95 한국토양비료학회. 유기성 폐기물 비료화의 문제점과 대책 심포지엄. : 17-45.
- 한환수(1988), 제혁기술. (주)동성기술연구소 : 117-13.
- Brown, E.M., Thompson, C.J. & Taylor, M.M.(1994), "Molecular Size and Conformation of Protein Recovered from Chrome Shavings", JALCA, 89, pp.215-220.
- Danies, R.P.(1995), "The Segregation of Chrome from the Environment. *World leather*", 11, pp.20-22.
- Herfeld, H. & Schubert, B.(1966), "Über die Beeinflussung von Gewicht, Dicke und Prallheit tierischer Haut durch Zusätze anorganischer Salze zum Ascher", *Das Leder*. 17, p.105.
- Herlihy, T.E. & Billings, W.H.(1996), "An Environmental Assessment and Feasibility Study of Using Vegetable Tannery Biosolids as a Soil Conditioner/plant Growth Supplement", JALCA. 91, pp.64-81.
- Ishihara, N., Nakashiro, M. & Okamura, H.(1980), "Preparation of Compound Materials Mixing with Latexes. *Hikaku kagaku*", Vol.26, No.3, pp.135-141.
- Kuntzel, A. & Heidemann, E.(1956), "Über die Quellung der Hautsubstanz unter Einfluß von Ascherchemikalien. *Das Leder*", 7, p.217.
- Niwa, Y. & Wada, K.(1981), "Chrome tanning system by recycling spent chrome liquor", *Hikaku kagaku*. Vol.27, No.2, pp.63-78.
- Okamoto, K., Sumita, S., Yasui, M. & Yamamoto, T.(1985), "Study on preparation of gelatin from chrome-tanned leather by lime treatment", *The Chemical Society of Japan*, 9, pp.1751-1756.
- Okamura, H. & Shirai, K.(1979), "Utilization of collagen fibers to parts of sound equipment", *Hikaku kagaku*. Vol.25, No.1, pp.1-6.
- Okamura, H.(1978), "Recovery and Utilization of Collagen Fibers from Hide Waste", *Hikaku kagaku*. Vol.25, No.1, pp.36-49.
- Okamura, H.(1994), "Outline of the Studies on Systematic Utilization of by-Products and Wastes in Leather Industries", *J. Northwest institute of indu-*

stry, 12, pp.17-29.

Taylor, M.M., Diefendorf, E.J. & Marmer, W.N.(1992), "Characterization of Products Isolated by Enzyme Chromium-containing Leather Waste", *JALCA*, 87, pp.380-389.

Taylor, M.M., Diefendorf, E.J., Thomp-

son, C.J. & Brown, E.M.(1993), "Effect of Processing Variables on Ash Content of Gelable and Hydrolyzed Protein Products Isolated from Treatment of Chromium Leather Waste", *JALCA*, 88, pp. 358-368.