

고체 산촉매를 이용한 창자파래로부터 환원당 생산에 미치는 인자들의 영향

정귀택^{*,†} · 박돈희^{***,****}

*부경대학교 생물공학과
 608-737 부산광역시 남구 용소로 45
 **전남대학교 생물공학과
 500-757 광주광역시 북구 용봉로 77
 ***전남대학교 바이오에너지 및 바이오소재 협동과정
 500-757 광주광역시 북구 용봉로 77

(2014년 10월 20일 접수, 2014년 11월 11일 수정본 접수, 2014년 11월 24일 채택)

Effect of Reaction Factors on Reducing Sugar Production from *Enteromorpha intestinalis* Using Solid Acid Catalyst

Gwi-Taek Jeong^{*,†} and Don-Hee Park^{***,****}

*Department of Biotechnology, Pukyong National University, 45 Yongso-ro, Nam-gu, Busan 608-737, Korea
 **Department of Biotechnology and Bioengineering, Chonnam National University, 77 Yongbong-ro, Buk-gu, Gwangju 500-757, Korea
 ***Interdisciplinary Program of Graduate School for Bioenergy and Biomaterials, Chonnam National University,
 77 Yongbong-ro, Buk-gu, Gwangju 500-757, Korea

(Received 20 October 2014; Received in revised form 11 November 2014; accepted 24 November 2014)

요 약

본 연구는 거대 녹조류인 창자파래(*Enteromorpha intestinalis*)를 대상으로 고체 산촉매를 사용하여 환원당을 생산하고자 하였다. 가수분해 반응은 고액비, 촉매량, 반응온도와 반응시간을 대상으로 최적화하였다. 결과적으로 액/고비 7.5, 반응온도 140 °C, 촉매량 15%, 그리고 반응시간 2 hr에서 7.74 g/L의 환원당을 얻었다. 반면에 단지 0.13 g/L의 5-HMF만이 생성되었다. 이로부터 고체 산촉매를 이용한 해양 바이오매스 자원의 가능성을 확인하였다.

Abstract – In this study, the hydrolysis of green macro-algae *Enteromorpha intestinalis* using solid acid catalyst was conducted to obtain total reducing sugar. The hydrolysis was optimized with four reaction parameters of liquid-to-solid (L/S) ratio, catalyst amount, reaction temperature, and reaction time. As a optimized result, the highest TRS of 7.74 g/L was obtained under condition of 7.5 L/S ratio, 140 °C, 15% catalyst amount and 2 hr. By the way, at this condition, only 0.13 g/L 5-HMF was detected. The solid acid-catalyzed hydrolysis of marine resources had the potential in the field of bioenergy.

Key words: Solid-acid Catalyst, Reducing Sugar, Bioenergy, *Enteromorpha intestinalis*

1. 서 론

바다에 서식하는 해조류는 육상 식물에 비해 생산성이 높고, 탄수화물의 함량과 조성이 종(species), 서식장소, 기후 및 채취시기 등에 따라 다양하다[1-4]. 해조류 유래의 2,400종 이상의 천연물질이 의약품 및 식품산업에 사용되고 있고, 일부 해조류는 식용으로 사용되고 있다[4-6]. 최근에는 해조류 유래 탄수화물과 지질이 바이오에너지의 원료 물질로 인식되면서 관련 연구가 확대되고 있다[1-4,7,8].

녹조식물문 갈파래목(Ulvales) 갈파래과(Ulvaceae)에 속하는 해조류인 창자파래(*Enteromorpha intestinalis*)는 항산화 활성을 포함한 다양한 생리활성에 관한 연구가 수행되었다[4-6]. 또한 파래는 섬유소, 단백질, 지방, 철분, 칼슘, 비타민 등의 영양소가 많이 함유되어 있고 오래전부터 국내에서는 식품으로 이용되고 있다[4,6].

바이오매스로부터 바이오에너지로의 전환을 위해서는 바이오매스의 단량체로의 가수분해가 중요한 공정 중에 하나이며, 이러한 가수분해는 바이오매스와 촉매의 특성, 그리고 공정의 변수에 따라 영향을 받는다[9-12]. 해조류에서 유용한 성분을 회수하기 위해서는 온수나 산, 알칼리 또는 효소를 이용하였으나, 최근에는 이온성 액체, 고압 액화추출, 마이크로웨이브 조사 등의 방법이 이루어지고 있다[2-4,7,8,13-15].

거대 해조류로부터 당을 얻기 위한 가수분해 반응은 주로 수열반

[†]To whom correspondence should be addressed.

E-mail: gtjeong@pknu.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

응, 열화학적 반응 또는 효소 반응 등에 의해 이루어진다고 보고되고 있다[7,8]. 수열 반응과 열화학적 반응은 반응 조건에 따라 가수분해된 당의 과도한 분해가 일어나 발효저해물질로 알려진 물질들이 생성되는 단점이 있고, 또한 촉매의 회수가 어려워 환경오염을 유발한다는 문제가 있다. 효소가수분해는 효소의 기질특이성 등의 특성으로 인하여 원하는 생산물을 얻을 수 있다는 장점이 있는 반면에 사용된 효소의 회수가 어렵고 가격이 비싸고, 그리고 반응시간이 길다는 단점이 있다. 이와는 다르게 고품 입자 형태의 산 촉매를 사용하게 되면 촉매의 회수 및 재사용이 가능하게 되어 경제성 및 친환경성의 장벽을 극복할 수 있다고 알려지고 있다[3,13,16].

본 연구에서 고체 산촉매로 사용한 Amberlyst-15는 상용화된 고분자성 양이온성 교환수지이며, 수용상 또는 비수용상에서 높은 선택성 때문에 유기합성에 사용되어 왔다. 또한 무독성, 재생가능성, 재활용성, 물리·화학적 안정성, 그리고 환경친화적인 장점이 있어 다양한 산촉매 반응에 사용되고 있다[17-21]. Kadam 등[18]은 Amberlyst-15를 촉매로 하여 activated arenes과 heteroarenes을 α -amido sulfones과의 Friedel-Crafts reactions을 수행하였고, Liu 등[19]은 methyl acetate와 n-octanol의 transesterification의 촉매로 사용하였다. Ameri 등[20]은 propionic acid와 isopropanol의 에스테르화 반응과 vapor permeation process에 적용하였다. 또한 Lee 등[21]은 isobutylene에 의한 glycerol의 에스테르화에 미치는 Amberlyst-15의 산성 부위 밀도의 영향을 보고하였다.

본 연구에서는 거대 해조류 중 녹조류에 속하는 창자파래(*E. intestinalis*)를 바이오매스로 이용하여 촉매로 상용 고체 산촉매인 Amberlyst 15를 이용하여 가수분해를 수행하여 환원당을 생성하고자 하였다. 이를 위하여 여러 반응조건(liquid-to-solid ratio, 촉매량, 반응온도, 반응시간)의 영향을 조사하여 창자파래와 고체 산촉매의 바이오에너지 분야에서의 적용가능성을 확인하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2-1. 실험재료

실험에 사용한 창자파래(*Enteromorpha intestinalis*, 전남 진도, 2012년 수확)는 60 °C에서 2일간 건조한 후 분쇄(200 μ m 이하)하여 실험에 사용하였다. 고체 산촉매로는 강산성 이온교환수지인 Amberlyst-15 (Sigma-Aldrich Co. Ltd., USA)를 사용하였으며, 그 특성은 다음과 같다. 수분함량($\leq 1.6\%$), matrix (styrene-divinylbenzene (macroreticular)), 입자 크기($< 300 \mu$ m), 용량(4.7 meq/g by dry weight) [22]. Glucose, 5-HMF, levulinic acid, formic acid, furfural 등의 분석용 시약은 특급시약을 사용하였다.

2-2. 가수분해

파래의 가수분해에 미치는 고체 산촉매의 영향을 알아보기 위하여 다음과 같은 방법을 이용하였다. 가수분해 실험은 유리 반응용기를 사용하여 실험에서 설정한 양의 바이오매스와 촉매를 첨가한 후 마그네틱 교반이 가능한 히팅 블럭을 사용하여 실험을 시작하였다. 교반속도는 500 rpm으로 설정하였다. 반응의 시작은 설정된 온도에 도달한 후 시작하였으며, 설정한 온도에 이르기까지 약 5분의 소요되었다. 설정한 반응시간 동안 반응을 수행한 후 반응이 끝나면 반응용기를 실온에서 10분간 냉각한 후 얻은 시료를 원심분리(15,000 rpm, 10분)하였다. 회수한 상등액을 이용하여 생성된 환원당 및 5-

HMF, LA의 양을 측정하였다.

2-2-1. Liquid-to-solid ratio의 영향

가수분해에 미치는 liquid-to-solid ratio의 영향을 알아보기 위하여 liquid-to-solid ratio의 비율을 7.5에서 30(volume per mass)까지로 설정하였다. 촉매의 농도는 바이오매스 중량을 기준으로 5%(w/w)로 설정하여 120 °C에서 2시간 동안 반응하면서 생성된 환원당의 양을 측정하였다.

2-2-2. 촉매농도의 영향

가수분해에 미치는 촉매량의 영향을 알아보기 위하여 바이오매스 중량을 기준으로 0-20%(w/w)로 촉매의 농도를 설정하여 7.5의 liquid-to-solid ratio의 조건에서 120 °C에서 2시간 동안 반응하면서 생성된 환원당의 양을 측정하였다.

2-2-3. 반응온도와 반응시간의 영향

가수분해에 미치는 반응온도와 반응시간의 영향을 알아보기 위하여 100~140 °C의 조건에서 반응을 수행하였다. 7.5의 liquid-to-solid ratio와 15% 산촉매 조건에서 설정 온도에서 5 시간 동안 반응하면서 생성된 환원당 및 5-HMF, levulinic acid의 양을 측정하였다.

2-3. 분석방법

시료 중의 환원당은 DNS법으로 분광광도계를 이용하여 580 nm에서 측정하였다. 표준시료로는 glucose를 사용하였다[23]. 5-HMF, levulinic acid, formic acid와 furfural의 분석은 high performance liquid chromatography(Agilent 1100, USA) 시스템을 사용하였다. 시료 중의 성분은 Bio-Rad 사(USA)의 Aminex-87H 칼럼을 이용하여 오븐온도 65 °C에서 이동상으로 5 mM의 황산 수용액을 0.6 mL/min의 유속으로 적용하여 분리하였으며, 성분의 검출은 굴절률 검출기(RID)를 이용하였다.

3. 결과 및 고찰

본 연구에서는 거대조류 중 녹조류에 해당하는 창자파래(*E. intestinalis*)로부터 바이오에너지 생산에 사용가능한 당을 생산하기 위하여 고체 산촉매를 적용하였다. 실험에 사용한 고체 산촉매로는 많은 화학반응에 사용되고 있는 강산성 이온수지인 Amberlyst 15를 이용하였다. 당을 얻기 위한 가수분해 반응조건은 liquid-to-solid ratio, 촉매량, 반응온도, 반응시간에 대한 영향을 조사하였다.

3-1. Liquid-to-solid ratio의 영향

파래 가수분해에 미치는 L/S 비의 영향을 조사하기 위하여 L/S 비를 7.5-30으로 설정한 후 5%(w/w; 바이오매스 중량 기준)의 촉매를 첨가하여 120 °C에서 2시간 동안 반응하여 얻은 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 7.5의 L/S 비에서 가장 높은 3.65 g/L의 환원당을 얻었다. L/S 비가 증가할수록 환원당의 농도가 감소하였다. 전환 수율로 계산하면, L/S 비가 증가할수록 수율이 증가하는 경향을 나타내었다. L/S 비 30의 조건에서 가장 높은 3.98%의 수율을 나타내었다. 7.5-15의 L/S 비 범위에서는 3.06-3.13%의 비슷한 값을 나타내었다. 이와 비교할만한 연구로는 모자반(*Sargassum fulvellum*)으로부터 환원당 생산을 위하여 고/액비(solid-to-liquid ratio)를 1:15로 설정

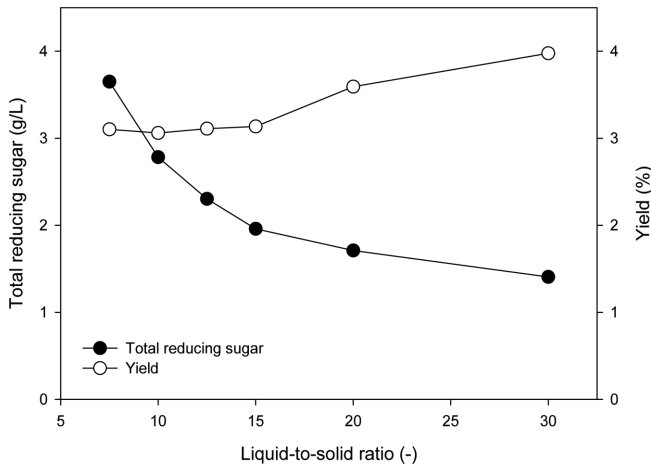


Fig. 1. Effect of liquid-to-solid ratio on the hydrolysis of *E. intestinalis* using solid acid catalyst.

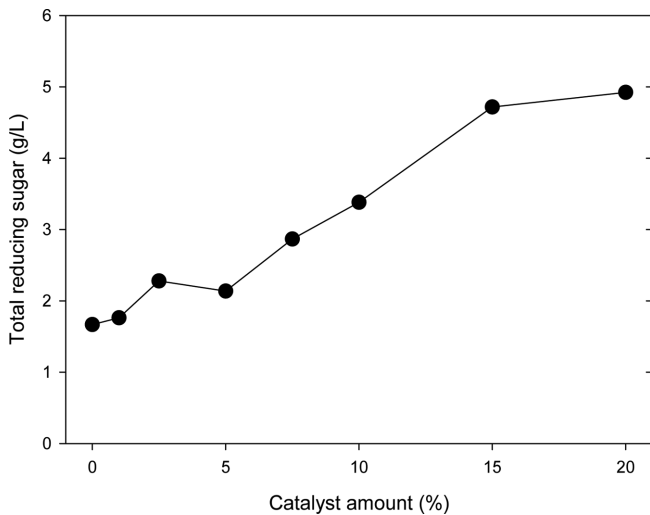


Fig. 2. Effect of catalyst amount on the hydrolysis of *E. intestinalis* using solid acid catalyst.

하여 묶은 산 촉매를 이용한 수열가수분해를 수행하였다고 보고하였다[24]. 또한 청각(*Codium fragile*)을 1:20의 고/액비로 묶은 산 촉매 수열가수분해의 결과를 보고하였다[1]. 본 연구에서는 최대한 많은 양의 환원당을 얻기 위하여 L/S 비 7.5의 조건을 최적값으로 설정하여 다음의 실험에 적용하였다.

3-2. 촉매농도의 영향

가수분해에 미치는 촉매량의 영향을 알아보기 위하여 바이오매스 중량을 기준으로 0~20%(w/w)로 촉매의 농도를 설정하여 7.5의 L/S 비, 120 °C의 조건에서 2시간 동안 반응하여 얻은 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 15%까지는 촉매량이 증가할수록 환원당의 농도도 비례적으로 증가하였다. 촉매농도 20%에서 4.92 g/L의 환원당을 얻었다. 그러나 15%와 20%에서 약 0.2 g/L의 환원당 농도차이를 나타내어 촉매의 비용 대비 환원당 생성량을 고려하여 15%를 최적 촉매량으로 선정하여 다음 실험에 적용하였다.

3-3. 반응온도와 반응시간의 영향

가수분해에 미치는 반응온도와 반응시간의 영향을 알아보기 위

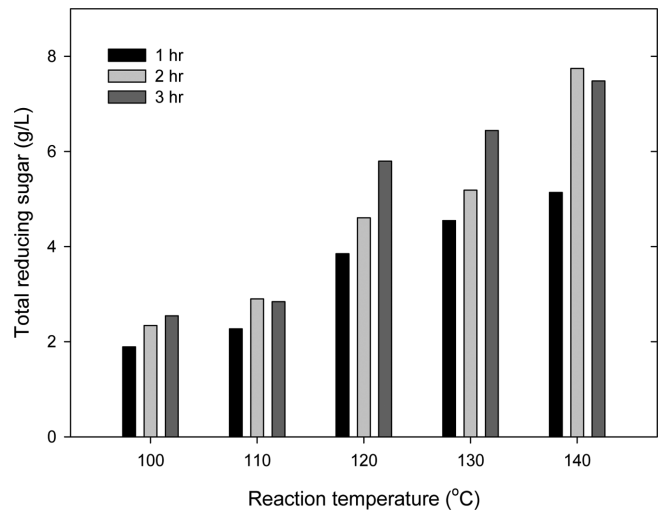


Fig. 3. Effect of reaction temperature and time on the formation of total reducing sugar of *E. intestinalis* using solid acid catalyst.

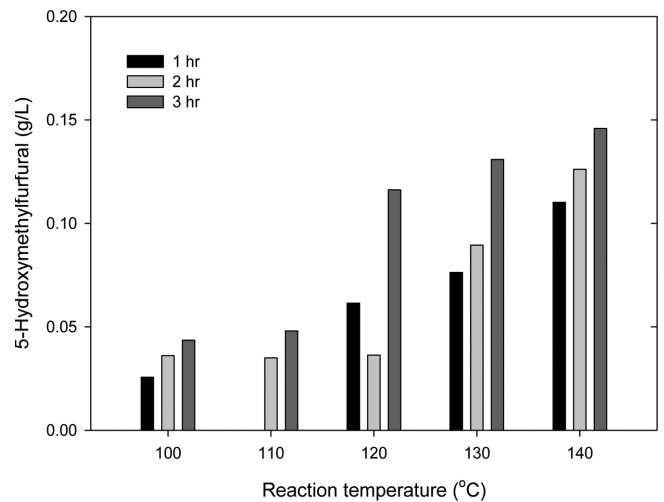


Fig. 4. Effect of reaction temperature and time on the formation of 5-hydroxymethylfurfural of *E. intestinalis* using solid acid catalyst.

하여 7.5의 L/S 비와 15% 촉매량 조건에서 반응온도(100~140 °C)와 반응시간에 따라 생성된 환원당, 5-HMF 및 levulinic acid의 양을 조사하였다. Fig. 3에 나타난 것과 같이, 환원당의 양은 반응온도가 증가할수록 증가하는 경향을 나타내어 140 °C에서 가장 많은 환원당을 생성하였다. 또한 일정한 반응온도에서 반응시간이 증가함에 따라 환원당 농도도 증가함을 나타내었다. 높은 온도(140 °C)에서는 반응시간이 증가함에 따라 생성된 환원당 농도가 조금 감소하였다. 이는 생성된 환원당 중 일부가 과분해되어 5-HMF, levulinic acid, furfural과 같은 화학물질로 전환된 결과인 것으로 판단된다[1,2,8].

Fig. 4는 반응온도와 반응시간에 따른 5-HMF의 생성을 나타낸 것이다. 반응온도와 반응시간이 증가함에 따라 5-HMF의 생성이 증가하는 경향을 나타내었다. 전체적인 5-HMF의 농도는 0.15 g/L 이하를 나타내었다. 이는 일반적으로 알려진 5-HMF에 의한 발효 저해농도인 5 g/L에 비하여 낮으므로[7-11], 고체 산촉매를 사용한 가수분해액을 미생물 발효공정에 사용하는데 저해작용은 없으리라 판단된다. 또한 또 다른 발효저해물질로 알려져 있는 levulinic

acid, formic acid, furfural과 같은 화합물질은 HPLC 분석에서 측정되지 않았다. 이와 비교할 만한 결과로는 거대해조류 중 갈조류에 속하는 모자반(*S. fuvelum*)으로부터 환원당 생산을 위하여 묽은 산 촉매를 이용한 수열가수분해법을 수행한 결과, 환원당 생성에 있어서 최적의 반응조건은 반응 온도 160.1 °C, 촉매농도 1.0%, 그리고 반응시간 20.2분의 조건에서 15.28 g/L가 생성되었다고 보고하였다[24].

4. 결 론

본 연구는 해양 거대 녹조류인 창자과래(*E. intestinalis*)로부터 환원당을 생산하기 위하여 고체 산촉매를 사용하여 가수분해 반응을 수행하였다. 최적화 결과, 액/고비 7.5, 반응 온도 140 °C, 촉매량 15%, 그리고 반응시간 2 hr에서 7.74 g/L의 환원당을 얻을 수 있었다. 반면에 발효저해물질로 알려져 있는 5-HMF는 0.13 g/L 정도만 생성되어 가수분해에 유용한 방법이었다. 이로써 고체 산촉매 Amberlyst 15와 창자과래를 이용함으로써 해양 바이오매스 자원의 바이오에너지 분야로의 적용가능성을 확인하였다.

감 사

이 논문은 2012년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 기초연구사업 지원을 받아 수행된 것입니다(2012R1A1A2006718).

References

- Jeong, G. T. and Park, D. H., "Production of Levulinic Acid from Marine Algae *Codium fragile* Using Acid-hydrolysis and Response Surface Methodology," *KSBB J.*, **26**, 341-346(2011).
- Jeong, G. T. and Park, D. H., "Production of Sugars and Levulinic Acid from Marine Biomass *Gelidium amansii*," *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **161**, 41-52(2010).
- Park, D. H. and Jeong, G. T., "Production of Reducing Sugar from Macroalgae *Saccharina japonica* Using Ionic Liquid Catalyst," *Korean Chem. Eng. Res.*, **51**(1), 106-110(2013).
- Jeong, G. T. and Park, D. H., "Effect of Pretreatment Method on Lipid Extraction from *Enteromorpha Intestinalis*," *KSBB J.*, **29**(1), 22-28(2014).
- Chandini, S. K., Ganesan, P., Suresh, P. V. and Bhaskar, N., "Seaweeds as Source of Nutritionally Beneficial Compounds - a Review," *J. Food Sci. Technol.*, **45**, 1-13(2008).
- Han, Y. B., "Edible Seaweed II - Components and Biological Activity," pp. 262-269, Korea University Press, Korea(2010).
- Jang, J. S., Cho, Y., Jeong, G. T. and Kim, S. K., "Optimization of Saccharification and Ethanol Production by Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF) from Seaweed, *Saccharina japonica*," *Bioprocess. Biosyst. Eng.*, **35**, 11-18(2012).
- Meinita, M. D. N., Hong, Y. K. and Jeong, G. T., "Comparison of Sulfuric and Hydrochloric Acids as Catalysts in Hydrolysis of *Kappaphycus alvarezii* (cottonii)," *Bioprocess. Biosyst. Eng.*, **35**, 123-128(2012).
- Kang, K. E., Park, D. H. and Jeong, G. T., "Effects of Inorganic Salts on Pretreatment of Miscanthus Straw," *Bioresour. Technol.*, **132**, 160-165(2013).
- Jeong, G. T., Kim, S. K. and Park, D. H., "Detoxification of Hydrolysate by Reactive Extraction for Generating Biofuels," *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, **18**, 88-93(2013).
- Kim, D. H., Lee, S. B. and Jeong, G. T., "Production of Reducing Sugar from *Enteromorpha intestinalis* by Hydrothermal and Enzymatic Hydrolysis," *Bioresour. Technol.*, **161**, 348-353(2014).
- Won, K. Y., Kim, Y. S. and Oh, K. K., "Comparison of Bioethanol Production of Simultaneous Saccharification & Fermentation and Separation Hydrolysis & Fermentation from Cellulose-rich Barley Straw," *Korean J. Chem. Eng.*, **29**, 1341-1346(2012).
- Song, B. B., Kim, S. K. and Jeong, G. T., "Enzymatic Hydrolysis of Marine Algae *Hizikia fusiforme*," *KSBB J.*, **26**, 347-351(2011).
- Lee, S. M., Kim, J. H., Cho, H. Y., Joo, H. and Lee, J. H., "Production of Bio-ethanol from Brown Algae by Physicochemical Hydrolysis," *J. Korean Ind. Eng. Chem.*, **20**, 517-521(2009).
- Yeon, J. H., Seo, H. B., Oh, S. H., Choi, W. S., Kang, D. H., Lee, H. Y. and Jung, K. H., "Bioethanol Production from Hydrolysate of Seaweed *Sargassum sagamianum*," *KSBB J.*, **25**, 283-288(2010).
- Tan, I. S., Lam, M. K. and Lee, K. T., "Hydrolysis of Macroalgae Using Heterogeneous Catalyst for Bioethanol Production," *Carbohydr. Polym.*, **94**, 561-566(2013).
- Pal, R., Sarkar, T. and Khasnobis, S., "Amberlyst-15 in Organic Synthesis," *ARKIVOC I*, 570-609(2012).
- Kadam, S. T., Thirupathi, P. and Kim, S. S., "Amberlyst-15: an Efficient and Reusable Catalyst for the Friedel-Crafts Reactions of Activated Arenes and Heteroarenes with α -amido Sulfones," *Tetrahedron*, **65**(50), 10383-10389(2009).
- Liu, Y., Wei, M., Gao, L., Li, X. and Mao, L., "Kinetics of Transesterification of Methyl Acetate and n-octanol Catalyzed by Cation Exchange Resins," *Korean J. Chem. Eng.*, **30**, 1039-1042(2013).
- Ameri, E., Moheb, A. and Roodpeyma, S., "Incorporation of Vapor Permeation Process to Esterification Reaction of Propionic Acid and Isopropanol for Performance Improvement," *Korean J. Chem. Eng.*, **28**, 1593-1598(2011).
- Lee, H. J., Seung, D., Filimonov, I. N. and Kim, H., "Etherification of Glycerol by Isobutylene. Effects of the Density of Acidic Sites in Ion-exchange Resin on the Distribution of Products," *Korean J. Chem. Eng.*, **28**, 756-762(2011).
- http://www.sigmaaldrich.com/Graphics/COFAInfo/SigmaSAPQM/SPEC/21/216380/216380-BULK_SIAL_.pdf
- Miller, G. L., "Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar," *Anal. Chem.*, **31**, 426-428(1959).
- Jeong, G. T., "Production of Total Reducing Sugar and Levulinic Acid from Brown Macro-algae *Sargassum fulvellum*," *Korean J. Microbiol. Biotechnol.*, **42**(2), 177-183(2014).