

고체 산촉매를 이용한 글루코사민으로부터 레볼린산 생산

박미라 · 김효선 · 김성구 · 정귀택[†]

부경대학교 생물공학과
48513 부산광역시 남구 용소로 45
(2017년 4월 13일 접수, 2017년 8월 7일 수정본 접수, 2017년 8월 9일 채택)

Production of Levulinic Acid from Glucosamine Using Solid Acid Catalyst

Mi-Ra Park, Hyo Seon Kim, Sung-Koo Kim and Gwi-Taek Jeong[†]

Department of Biotechnology, Pukyong National University, 45 Yongso-ro, Nam-gu, Busan, 48513, Korea
(Received 13 April 2017; Received in revised form 7 August 2017; accepted 9 August 2017)

요 약

본 연구는 해양 갑각류의 껍질의 주요 구성성분인 키틴/키토산의 단량체인 glucosamine을 고체 산 촉매를 이용하여 화학중간체인 levulinic acid와 5-hydroxymethyl furfural (5-HMF)을 생산하기 위한 전환 반응을 수행하였다. 반응 결과, glucosamine 50 g/L, 반응온도 180 °C, 촉매량 5%, 그리고 반응시간 60분의 조건에서 약 36.86%의 levulinic acid를 얻을 수 있었다. 반면에 5-HMF는 약 0.91%의 낮은 수율로 전환되었다.

Abstract – In this study, the conversion of glucosamine, which is a major monomer in chitin/chitosan of crustacean shell, using solid acid catalyst was performed to obtain chemical intermediates such as levulinic acid and 5-hydroxymethyl furfural (5-HMF). The conversion reaction was optimized with four reaction factors of selection of ionic resin catalyst, reaction temperature, catalyst amount, and reaction time. As an optimized result, the highest levulinic acid yield was achieved approximately 36.86% under the determined conditions (Amberlyst 15 as a solid-acid catalyst, 180 °C, 5% catalyst amount and 60 min). On the other hand, 5-HMF yield was found to be 0.91% at the condition.

Key words: Glucosamine, Solid-acid catalyst, Levulinic acid, 5-hydroxymethyl furfural

1. 서 론

전 지구적인 기후변화와 화석에너지의 고갈에 대한 우려로 다양한 형태의 신재생에너지가 개발되고 보급되고 있다. 이 중 바이오 에너지는 에너지 뿐만 아니라 화학원료 소재로서 석유자원을 대체할 수 있다[1,2]. 이러한 바이오에너지는 열화학적, 생물학적인 방법에 의해 당질계, 전분질계, 목질계, 그리고 해양조류(거대조류, 미세조류)와 같은 재생 가능한 자원으로부터 생산될 수 있다[1-5]. 최근에는 갑각류의 껍질에서 유래한 자원으로부터 에너지 및 화학소재 자원을 얻으려는 연구가 수행되고 있다[6,7].

Levulinic acid는 당류를 기반으로 석유자원을 대체하는데 필요한 기본 화학물질중 하나이다. Levulinic acid와 그 유도체들은 현재 석유자원에서 얻고 있는 플라스틱이나 정밀화학에서 사용되는 중간체들을 대체할 수 있고, 액체 연료로서의 가능성도 높게 평가

되고 있다[1,2,8,9]. 바이오매스의 기본 구성성분인 glucose, galactose, mannose, fructose 등의 당류는 산성 촉매 존재하에서 탈수반응에 의해 5-hydroxymethyl furfural (5-HMF)이나 levulinic acid로 전환될 수 있다[1,8-10].

키틴(poly-N-acetyl-D-glucosamine)과 키토산은 무독성, 무미, 무취의 갑각류 껍질의 주성분인 천연 고분자물질이다[6,7,11,12]. 지구상에 셀룰로오스 자원에 이어 두 번째로 많이 생산되고 있으며, 그 생산량이 10¹⁰-10¹¹ 톤/년에 이른다고 보고되고 있다[7,12]. 키토산의 단량체인 글루코사민은 글루코오스와 비슷하여 글루코오스에 아민기가 결합되어 있는 구조이다. 글루코사민은 글루코오스와 마찬가지로 화학중간체인 levulinic acid와 5-HMF로 전환될 수 있다[7].

본 연구에서는 glucosamine을 화학중간체인 levulinic acid와 5-HMF로 전환하는데 촉매로서 고체 산성 촉매로 상용화된 이온교환수지를 적용하고자 하였다. 본 연구에 사용한 Amberlyst 15는 고분자성 강산성 양이온 교환수지이다. 수용상과 비수용상의 반응에서 무독성, 재생가능성, 높은 선택성, 물리·화학적 안정성, 그리고 환경친화성 등의 장점으로 많이 사용되고 있다[3,13-15]. 해조류의 가수분해반응에 Amberlyst 15가 촉매로 적용되어 고체 촉매로서의 가능성을 제시하기도 하였다[3,15]. 최근에는 glucose와 fructose와 같은

[†]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.

당으로부터 5-HMF와 levulinic acid를 생산하는데 촉매로써 적용되고 있다[17,18].

본 연구에서는 갑각류 껍질의 주성분인 키틴/키토산의 단량체인 glucosamine을 바이오매스로 이용하여 고체 산 촉매로 선정된 상용 이온교환수지인 Amberlyst 15를 이용하여 전환반응을 수행하여 바이오연료 및 화학원료로 사용가능한 화학중간체인 levulinic acid와 5-HMF를 생산하고자 하였다. 이를 위하여 여러 반응조건(촉매 선정, 촉매농도, 반응온도, 반응시간)의 영향을 조사하여 갑각류 껍질의 단위 구성성분인 glucosamine과 고체 산 촉매인 이온교환수지를 바이오에너지 생산에 적용가능한지 확인하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2-1. 실험재료

실험에 사용한 바이오매스로는 glucosamine HCl (Sigma-Aldrich Co. Ltd., USA)를 사용하였다. 실험에 다음과 같은 17종의 이온수지를 사용하였다. Amberlyst[®] 15 (A; Sigma-Aldrich Co. Ltd., USA), Dowex[®] G26 (B; Sigma-Aldrich Co. Ltd., USA), Dowex[®] Marathon[™] MSC (C; Sigma-Aldrich Co. Ltd., USA, Amberlyst[®] 36 (D; Sigma-Aldrich Co. Ltd., USA), Dowex[®] Monosphere[®] 650C (E; Sigma-Aldrich Co. Ltd., USA), Dowex[®] 50WX2 (F; Sigma-Aldrich Co. Ltd., USA), SYBRON IONAX NM 60 (G; HanKook BayChemical Co., Ltd., Korea), Amberlite IR 120 (H; Duksan Chemicals, Korea), Amberlite 200C (J; Fluka), Diaion HP-20 (K; Supelco Co., Ltd.), Amberlite IRA-900 (L; Sigma-Aldrich Co. Ltd., USA), LEWATIT S1467 (M; HanKook BayChemical Co., Ltd., Korea), TRILITE SAR-200MB (N; Samyang Co., Ltd., Korea), Dowex XUS 40323 (O; Supelco Co., Ltd.), Amberlite XAD-4 (P), Amberlite XAD-7 (Q).

고체 산성 촉매로 실험에 사용한 Amberlyst-15 (Sigma-Aldrich Co. Ltd., USA)는 강산성 이온교환수지로 알려져 있으며, 특성은 다음과 같다. Styrene-divinylbenzene이 macroreticular 형태로 구성되어 있으며, 입자 크기는 300 μm 이하, 수분함량은 ≤1.6%, 그리고 건조중량당 4.7 meq/g 용량을 가지고 있다[3,16]. Glucosamine HCl, 5-HMF, levulinic acid 등의 분석용 시약은 특급시약을 사용하였다.

2-2. 전환반응

Glucosamine의 화학중간체로의 전환반응에 미치는 고체 산 촉매의 영향을 다음과 같은 방법으로 조사하였다. 전환반응 실험은 stainless steel 반응용기를 사용하여 각각의 실험조건에서 설정한 바이오매스와 촉매를 첨가하여 마그네틱 교반이 가능한 오일베스에서 실험을 시작하였다. 교반속도는 약 400 rpm으로 설정하였다. 반응은 반응기에 설치된 온도계가 설정된 온도에 도달한 후 0분으로 시작하였으며, 오일베스에 반응기를 넣은 후 설정한 온도에 도달하기까지는 약 5분이 소요되었다. 설정한 반응시간 동안 반응을 진행한 후 즉시 반응용기를 흐르는 수도물을 이용하여 10분간 냉각한 후 시료를 확보하였다. 확보한 시료는 원심분리(17,000 rpm, 10분)하여 회수한 상등액을 이용하여 생성된 5-HMF와 levulinic acid의 양을 HPLC를 이용하여 측정하였다[7].

2-2-1. 고체촉매의 선정

산성 고체 촉매(이온수지)를 이용한 glucosamine의 화학중간체

로의 전환을 위하여 17종의 촉매를 대상으로 glucosamine 50 g/L, 촉매량 1.5%의 조건에서 180 °C에서 60분 동안 반응하였다.

2-2-2. 반응온도의 영향

산성 고체 촉매(Amberlyst-15)를 이용한 glucosamine의 화학중간체로의 전환을 위하여 glucosamine 50 g/L, 촉매량 1.5%의 조건에서 140~200 °C에서 60분 동안 반응하였다.

2-2-3. 촉매농도의 영향

산성 고체 촉매(Amberlyst-15)를 이용한 glucosamine의 화학중간체로의 전환을 위하여 glucosamine 50 g/L, 촉매량 0.5~7%의 조건에서 180 °C에서 60분 동안 반응하였다.

2-2-4. 반응시간의 영향

산성 고체 촉매(Amberlyst-15)를 이용한 glucosamine의 화학중간체로의 전환을 위하여 glucosamine 50 g/L, 촉매량 5%의 조건에서 180 °C에서 0~150분 동안 반응하였다.

2-3. 분석방법

시료 중의 5-HMF와 levulinic acid의 분석은 high performance liquid chromatography (Agilent 1100, USA) 시스템을 사용하였다. Bio-Rad사의 Aminex-87H 칼럼을 이용하여 이동상으로 5 mM의 황산 수용액을 0.6 mL/min의 유속과 오븐온도 65 °C에서 분리하였으며, 성분의 검출은 굴절률 검출기(RID)를 이용하였다. 표준물질로 5-HMF와 levulinic acid를 사용하여 retention time을 비교하여 분석하였다[7].

2-4. 전환 수율

5-HMF와 LA의 전환수율은 다음과 같이 계산하였다. 전환수율(%) = 생산물 농도(g/L)/초기 기질 농도(g/L) × 100.

2-5. 통계처리

모든 실험은 2회 이상 반복하여 각 항목에 따라 평균값±표준편차를 구하여 결과를 평가하였다.

3. 결과 및 고찰

본 연구에서는 갑각류의 껍질의 주요성분인 키틴과 키토산의 단량체인 글루코사민으로부터 바이오연료와 화학원료로 사용되는 levulinic acid 생산에 고체 산 촉매로 17종의 이온교환 수지를 테스트하여 그 중 강산성 양이온 이온수지인 Amberlyst 15를 선택하여 적용하였다. Levulinic acid로 전환하기 위한 반응조건은 고체촉매의 선택, 반응온도, 촉매농도, 그리고 반응시간에 대한 영향을 조사하였다.

3-1. 고체 촉매의 선택

산성 고체 촉매(이온수지)를 이용한 glucosamine의 화학중간체로의 전환을 위하여 17종의 촉매를 대상으로 glucosamine 50 g/L, 촉매량 1.5%의 조건에서 180 °C에서 60분 동안 반응하여 levulinic acid와 5-HMF로의 전환 수율을 비교하였다. Fig. 1에 17종의 촉매를 대상으로 glucosamine을 levulinic acid와 5-HMF로 전환한 결과를 나타내었다. 이온수지 B, C, D, E, F, G는 7.99~10.35%의 매우 낮은

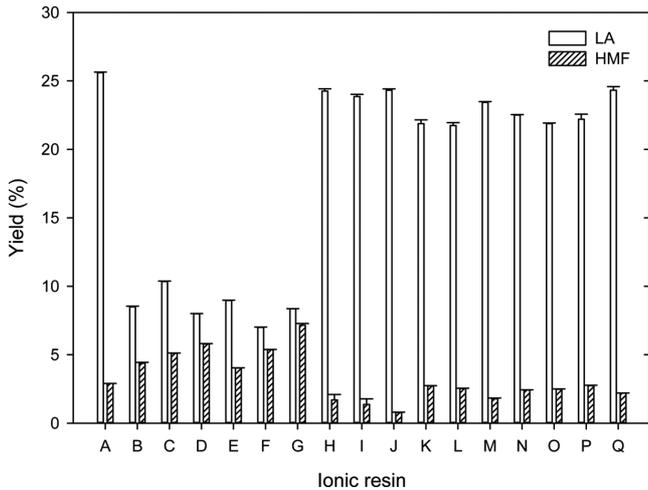


Fig. 1. Selection of ionic resin catalyst for conversion of glucosamine into levulinic acid and 5-hydroxymethyl furfural. A (Amberlyst® 15), B (Dowex® G26), C (Dowex® Marathon™ MSC), D (Amberlyst® 36), E (Dowex® Monosphere® 650C), F (Dowex® 50WX2), G (SYBRON IONAX NM 60), H (Amberlite IR 120), J (Amberlite 200C), K (HP-20), L (Amberlite IRA-900), M (LEWATIT S1467), N (TRILITE SAR-200MB), O (Dowex XUS 40323), P (Amberlite XAD-4), Q (Amberlite XAD-7).

전환 수율을 나타내었다. 이외에 대부분의 이온수지 촉매들은 21~24%의 전환 수율을 나타내었다. 가장 높은 levulinic acid를 생성한 이온교환수지 촉매는 A (Amberlyst 15)로 25.6%의 전환 수율을 나타내었다. 5-HMF의 수율은 levulinic acid로의 전환 수율이 낮은 촉매가 상대적으로 높았으나, 0.78~5.78% 정도의 낮은 수율을 나타내었다. 본 연구에서는 최대 수율의 levulinic acid를 얻기 위하여 Amberlyst 15를 고체 산촉매로 선정하여 다음의 실험에 적용하였다.

3-2. 반응온도의 영향

산성 고체 촉매(Amberlyst-15)를 이용한 glucosamine의 화학중간체로의 전환을 위하여 glucosamine 50 g/L, 촉매량 1.5%의 조건에서 반응온도 140~200 °C에서 60분 동안 반응하여 levulinic acid와 5-HMF로의 전환 수율을 비교하였다. Fig. 2는 반응온도에 따른

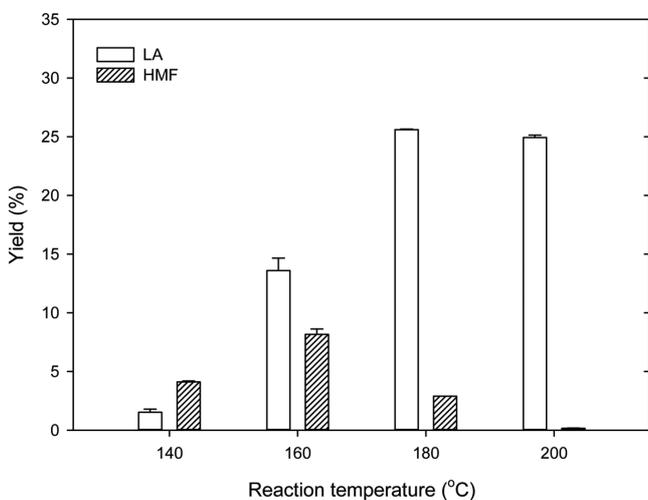


Fig. 2. Effect of reaction temperature on conversion of glucosamine into levulinic acid and 5-hydroxymethyl furfural.

glucosamine으로부터 levulinic acid와 5-HMF로 전환한 결과를 나타내었다. Levulinic acid는 반응온도가 180 °C까지 증가하여 25.60±0.04%의 전환 수율을 나타내었고, 200 °C에서는 24.92%로 감소하는 경향을 나타내었다. 이는 생성된 5-HMF와 levulinic acid가 고온의 반응온도에서 중합반응이 일어나 humin과 같은 물질로 전환되면서 levulinic acid의 수율이 감소한 것으로 판단된다[19-22]. 5-HMF는 160 °C에서 8.17±0.45%의 가장 높은 전환 수율을 나타내었다. 이후에는 감소하는 경향을 나타내었다. 이는 glucosamine으로부터 생성된 5-HMF가 고온조건과 같은 가혹한 반응조건에 의해 재수화(rehydration) 반응이 일어나 levulinic acid와 formic acid로 전환되었기 때문으로 판단된다[19-22]. Jeon 등 [17]에 의하면 alginate를 Amberlyst 15를 촉매로 사용하여 furfural로 전환하는 연구에서 180 °C, 30분의 조건에서 최고의 수율을 보고하였다. Son 등 [18]은 fructose를 Amberlyst 15를 이용한 levulinic acid로의 전환 연구에서 10~140 °C 범위에서 반응온도가 증가할수록 높은 levulinic acid 수율을 얻었다고 보고 하였다. 본 연구에서는 최대 수율의 levulinic acid를 얻기 위하여 반응온도를 180 °C로 설정하여 다음 실험에 적용하였다.

3-2. 촉매농도의 영향

산성 고체 촉매(Amberlyst-15)를 이용한 glucosamine의 화학중간체로의 전환을 위하여 glucosamine 50 g/L, 촉매량 0.5~7%의 조건에서 180 °C에서 60분 동안 반응하여 levulinic acid와 5-HMF로의 전환 수율을 비교하였다. Fig. 3에 촉매 농도에 따른 glucosamine으로부터 levulinic acid와 5-HMF로 전환된 결과를 나타내었다. Levulinic acid는 전환 반응에 사용한 촉매량이 0.5%에서 5%까지 촉매량이 증가함에 따라 증가하여 5%에서 37.49±0.66%의 전환 수율을 나타내었고, 7.5%에서는 27.81±2.61%로 감소하는 경향을 나타내었다. 이는 생성된 levulinic acid가 다량의 산성 촉매에 의한 중합반응이 일어나 humin과 같은 물질로 전환되면서 levulinic acid의 수율이 감소한 것으로 판단된다[19-22]. 5-HMF는 1.5%에서 가장 높은 4.31±0.47%의 전환 수율을 나타내었고, 이후에는 2~3% 내외의 전환 수율을 나타내는 경향을 나타내었다. 이는 glucosamine으로부터 생성된 5-HMF가 고농도의 촉매하에서 재수화(rehydration) 반응이

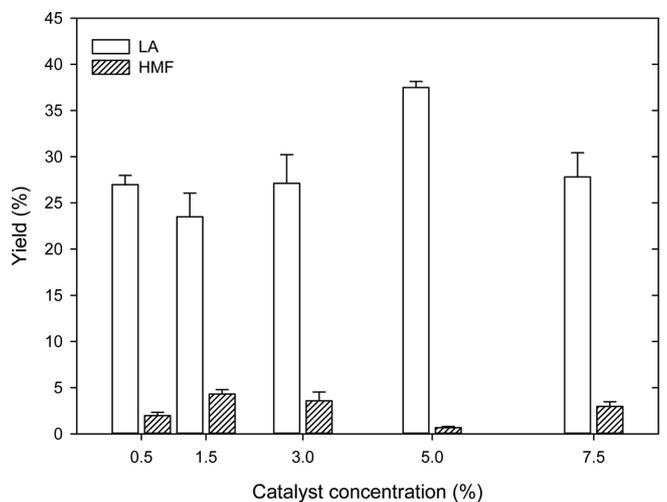


Fig. 3. Effect of catalyst concentration on conversion of glucosamine into levulinic acid and 5-hydroxymethyl furfural.

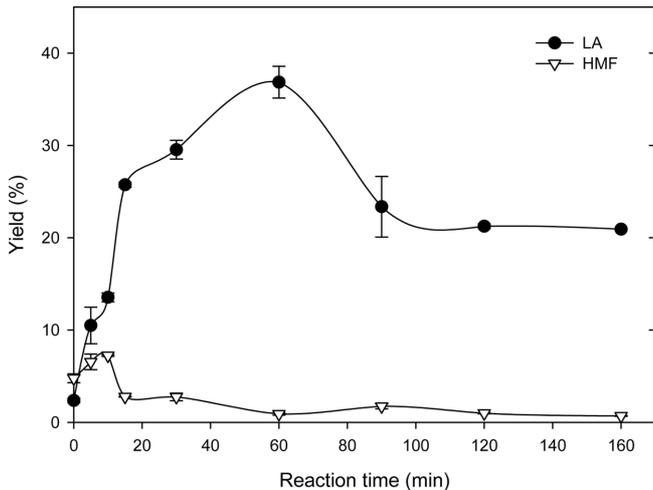


Fig. 4. Effect of reaction time on conversion of glucosamine into levulinic acid and 5-hydroxymethyl furfural.

일어나 levulinic acid와 formic acid로 전환되었기 때문에 판단된다[19-22]. Jeon 등 [17]에 의하면 alginic acid를 furfural로 전환하는 연구에서 180 °C, 30분의 조건에서 반응액 30 mL 당 600 mg의 Amberlyst 15를 촉매로 사용하여 가장 높은 14 mol%의 수율을 보고하였다. 본 연구에서는 최대 수율의 levulinic acid를 얻기 위하여 촉매 농도를 5%로 설정하여 다음 실험에 적용하였다.

3-4. 반응시간의 영향

산성 고체 촉매 Amberlyst-15를 이용한 glucosamine의 화학중간체로의 전환을 위하여 glucosamine 50 g/L, 촉매량 5%의 조건에서 180 °C에서 0~150분 동안 반응하여 levulinic acid와 5-HMF로의 전환 수율을 비교하였다. Fig. 4에는 반응시간에 따른 levulinic acid와 5-HMF의 생성을 나타내었다. Levulinic acid의 생성은 반응시간이 증가함에 따라 60분 까지 증가하다가 이후에는 감소하는 경향을 나타내었다. 최고의 levulinic acid 전환 수율은 반응 60분에 36.86±1.72%의 수율을 얻었다. 5-HMF의 수율은 반응 초반기에 증가하는 경향을 나타내다 60분 이후에는 1% 이하의 수율을 나타내었다. 이는 반응 초기에 생성된 5-HMF가 levulinic acid로 전환되어 반응이 진행됨에 따라 감소하는 경향을 보이고, levulinic acid는 반응이 진행되는 일정 시간동안 증가하다가 이후에는 반응조건에서 부가적인 반응에 의해 humic substance과 같은 물질로 전환되어 levulinic acid의 수율이 감소되는 것으로 판단된다[19-22]. 이와 비교할 만한 결과로는 Jeon 등 [17]의 보고에 의하면 alginic acid를 Amberlyst 15를 이용하여 furfural로 전환하는 연구에서 일정 반응 온도(140 °C) 이상에서는 일정 시간까지는 furfural의 생성이 증가하나 일반적으로 반응시간이 증가할수록 감소하는 경향을 나타내었다. Jeong [6]의 보고에 의하면 glucosamine을 균일 촉매인 황산을 사용하여 levulinic acid로 전환한 결과, 반응온도 188 °C, 황산 4 wt%, 기질농도 120 g/L의 조건에서 반응 49분에 30.3 g/L (25.3 wt%)의 levulinic acid 수율을 얻었다고 보고하였다.

4. 결 론

본 연구는 해양 갑각류의 껍질의 주요 구성성분인 키틴/키토산의

단량체인 glucosamine을 고체 산 촉매인 Amberlyst 15를 이용하여 화학중간체인 levulinic acid와 5-HMF로 전환가능성을 탐색하고자 하였다. 반응조건의 최적화 결과, glucosamine 50 g/L, 반응온도 180 °C, 촉매량 5%, 그리고 반응시간 60분의 조건에서 36.86±1.72%의 levulinic acid를 얻을 수 있었다. 반면 같은 조건에서 5-HMF는 0.91±0.13%의 낮은 수율을 얻을 수 있었다. 이러한 결과는 해양 유래 자원인 갑각류의 껍질과 고체 산 촉매인 Amberlyst 15를 이용함으로써 화학중간체를 생산할 수 있음을 확인하였다.

감 사

이 논문은 2015년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 기초연구사업 지원을 받아 수행된 것임(NRF-2015R1D1A3A01015882).

References

- Kamm, B., Gruber, P. R. and Kamm, M., *Biorefineries : Industrial Processes and Products*, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim(2008).
- Oh, Y. H., Eom, I. Y., Joo, J. C., Yu, J. H., Song, B. K., Lee, S. H., Hong, S. H. and Park, S. J., "Recent Advances in Development of Biomass Pretreatment Technologies Used in Biorefinery for the Production of Bio-based Fuels, Chemicals and Polymers," *Korean J. Chem. Eng.*, **32**, 1945-1959(2015).
- Jeong, G. T., Kim S. K. and Park, D. H., "Application of Solid-acid Catalyst and Marine Macro-algae *Gracilaria verrucosa* to Production of Fermentable Sugars," *Bioresour. Technol.*, **181**, 1-6(2015).
- Kim, D. H., Kim, A., Park, D. H. and Jeong, G. T., "Production of Total Reducing Sugar from *Enteromorpha intestinalis* Using Citrate Buffer Pretreatment and Subsequent Enzymatic Hydrolysis," *Korean Chem. Eng. Res.*, **54**, 70-74(2016).
- Park, J. H. and Kim, J. S., "Two-step Acid Hydrolysis Method for Producing Fermentable Sugar from Lignocellulosic Biomass," *Korean Chem. Eng. Res.*, **54**, 1-5(2016).
- Jeong, G. T., "Production of Levulinic Acid from Glucosamine by Dilute-acid Catalyzed Hydrothermal Process," *Ind. Crop Prod.*, **62**, 77-83(2014).
- Lee, S. B. and Jeong, G. T., "Catalytic Conversion of Chitosan to 5-hydroxymethylfurfural Under Low Temperature Hydrothermal Process," *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **176**, 1151-1161(2015).
- 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).
- Esmacili, N., Zohuriaan-Mehr, M. J., Bouhendi, H. and Bagheri-Marandi, G., "HMF Synthesis in Aqueous and Organic Media Under Ultrasonication, Microwave Irradiation and Conventional Heating," *Korean J. Chem. Eng.*, **33**, 1964-1970(2016).
- Jeong, G. T. and Park, D. H., "Production of Levulinic Acid from Marine Algae *Codium fragile* Using Acid-hydrolysis and Response Surface Methodology," *KSB Journal* **26**, 341-346(2011).
- Wang, Y., Pederson, C. M., Deng, T., Qiao, Y. and Hou, X., "Direct Conversion of Chitin Biomass to 5-hydroxymethylfurfural in Concentrated ZnCl₂ Aqueous Solution," *Bioresour. Technol.*, **143**, 384-390(2013).
- Coh, B. Y., Lee, J. W., Kim, E. S. and Park, Y. S., "Industry Analy-

- sis: Chitosan," *J. Chitin Chitosan*, **8**, 127-133(2003).
13. 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 Sulfoxes," *Tetrahedron*, **65**, 10383-10389(2009).
 14. Pal, R., Sarkar, T. and Khasnobis, S., "Amberlyst-15 in Organic Synthesis," *ARKIVOC*, 570-609(2012).
 15. 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).
 16. Sigma-Aldrich, Product Specification. <http://www.sigmaaldrich.com/Graphics/COFAInfo/SigmaSAPQM/SPEC/21/216380/216380-BULK_SIAL_pdf> (Accessed 30 Oct 2014).
 17. Jeon, W., Ban, C., Kim, J. E., Woo, H. C. and Kim, D. H., "Production of Furfural from Macroalgae-derived Alginic Acid over Amberlyst-15," *J. Mol. Catal. A: Chem.*, **423**, 264-269(2016).
 18. Son, P. A., Nishimura, S. and Ebitani, K., "Synthesis of Levulinic Acid from Fructose Using Amberlyst-15 as a Solid Catalyst," *Reac. Kinet. Mech. Cat.*, **106**, 185-192(2012).
 19. Kim, D. H., Lee, S. B., Kim, S. K., Park, D. H. and Jeong, G. T., "Optimization and Evaluation of Sugars and Chemicals Production from Green Macro-algae *Enteromorpha intestinalis*," *Bioenerg. Res.*, **9**, 1155-1166(2016).
 20. Rasmussen, H., Sørensen, H. R. and Meyer, A. S., "Formation of Degradation Compounds from Lignocellulosic Biomass in the Biorefinery: Sugar Reaction Mechanisms," *Carbohydr. Res.*, **385**, 45-5718(2014).
 21. Jeong, G. T., Ra, C. H., Hong, Y. K., Kim, J. K., Kong, I. S., Kim, S. K. and Park, D. H., "Conversion of Red-algae *Gracilaria verucosa* to Sugars, Levulinic Acid and 5-hydroxymethylfurfural," *Bioprocess. Biosyst. Eng.*, **38**, 207-217(2015).
 22. Chheda, J. N., Roman-Leshkov, Y. and Dumesic, J. A., "Production of 5-hydroxymethylfurfural and Furfural by Dehydration of Biomass Derived Mono- and Polysaccharides," *Green. Chem.*, **9**, 342-350(2007).