

Inulin의 산 가수분해 반응에서 초음파가 미치는 영향

김성배·윤석준
경상대학교 공과대학 화학공학과

Effect of Ultrasound on the Acid Hydrolysis of Inulin

Sung Bae Kim and Suk Joon Yoon

Department of Chemical Engineering, Gyeongsang National University, Chinju 660-701, Korea

ABSTRACT

The effect of ultrasound on the acid hydrolysis of inulin was studied under significantly mild reaction conditions, at which sugar degradation products were not detected. Reaction conditions were in the range of 50~60°C and 0.1~0.3% (w/w) of HCl concentrations. The effects of reactor position inside water bath and mechanical agitation under ultrasound were investigated. The production rates of fructose with/without ultrasound irradiation were compared. The activation energies for both control and ultrasound reaction were the same, i. e., 25kcal/mol, and ultrasound enhancement was average 22%.

서론

다당류인 탄수화물을 가수분해반응에 의해 단당류로 전환하는 것은 식품산업과 바이오매스를 이용한 알코올 생산에서 매우 중요한 공정중의 하나이다. 가수분해반응에 사용되는 촉매로는 일반적으로 산 또는 효소를 사용하고 두 방법의 장단점은 상호보완적이다. Inulin은 과당의 고분자물질로서 돼지감자, chicory, 다알리아 등의 뿌리에 다량 함유되어 있고, 중합도는 식물의 종류에 따라 상당한 차이가 있지만 일반적으로 중합도가 30 이상인 것을 inulin이라고 부른다(1). Inulin을 가수분해하기 위해서는 inulase 또는 inulinase와 같은 효소를 이용하는 방법과 액체산 또는 고체산을 이용하는 방법이 있다. 산을 이용한 화학적인 처리법이 효소 처리법에 비해 여러 가지 장점이 있지만 최대의 결점은 생성된 당이 연속적으로 분해되어 다른 부산물이 생성된다는 점이다(1-4).

산 가수분해 반응에서 반응을 촉진시키는 방법으로 dextran 또는 sugar cane bagasse 등과 같은 탄

수화물 기질에 초음파를 사용하는 방법이 최근 연구되고 있다(5-8). 화학반응속도를 증가시키기 위해 초음파를 사용하는 방법은 과거 여러 화학반응에 적용해 sonochemistry라는 하나의 연구 분야를 이루었고(9), 탄수화물에 대한 적용은 80년대 이후 소수의 연구자에 의해 보고되고 있다. 화학 반응속도에 미치는 초음파의 영향은 기계적 교반 및 혼합의 증가, cavitation에 의한 국부적인 온도와 압력의 상승, 그리고 음파에 의한 물의 이온화로 인한 수소 이온농도의 증가 등으로 설명될 수 있다(10).

본 실험에서는 초음파를 산 가수분해 반응의 보조 수단으로 사용하여 산 당화방법의 결점인 생성당의 분해를 줄이고 반응속도를 향상시키는 방법에 관해 연구하고자 한다.

재료 및 방법

실험방법

Inulin은 dahlia 구근에서 얻어진 것으로 Sigma Chemical 제품을 사용하였고, 반응에 사용한 inulin

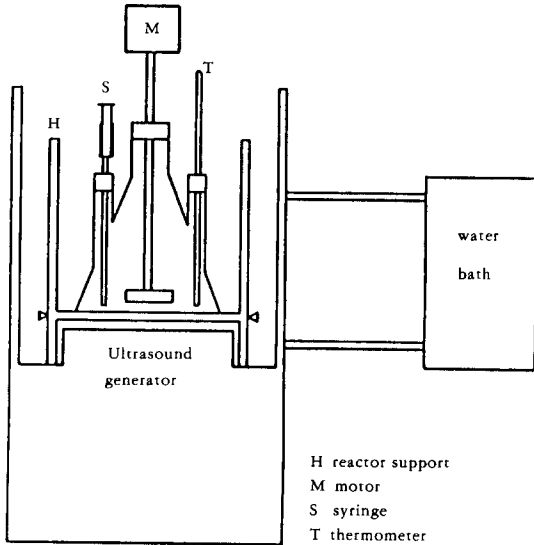


Fig. 1. Schematic diagram for reactor set-up.

용액은 산과 증류수를 포함하여 질량비가 5%(w/w)되게 만들었다. 산은 HCl을 0.1~0.3%(w/w) 범위에서 사용하였고 반응온도는 50~60°C 범위였다. 반응기는 Fig. 1에 보여지는 바와 같이 가지 달린 flask를 사용했는데, 먼저 반응기에 inulin분말을 넣고 증류수를 부어 항온조에 넣고 기계적인 교반을 시키면서 원하는 온도까지 도달한 후 5분간 탈기(degas)시켰다. 이 기간 동안 inulin이 가수분해되지 않음을 분석을 통해 확인하였다. 가수분해 반응은 HCl용액 약 1ml를 넣었을 때 반응기 내 용액이 원하는 산 농도가 되게끔 아주 정밀한 주사기(Hamilton Gastight 1ml)로 미리 계산된 농도와 부피의 HCl용액을 넣어 반응을 시작하였다. 반응 시작 후 원하는 시간에 시료를 채취하여 Ba(OH)₂로 중화시킨 후 두 번의 원심분리기(3000rpm과 15000rpm)를 사용해 분석용 시료를 준비하였다. 초음파의 효과를 비교하기 위해 같은 조건에서 초음파를 사용하지 않고 반응("control반응"이라고 함)시켰다. 분석은 HPLC(Water Associate)를 사용하여 fructose와 inulin은 RI detector로, hydroxymethyl furfural(HMF)은 RI와 연결된 UV detector로 측정하였다. Column은 Biorad HPX-87C를 사용하였다.

반응장치

초음파 장치로는 내용물에 직접조사(irradiation)하는 horn 형이 간접적인 조사방법인 bath 형보다 반

응속도를 증가시킬 수 있으나, horn 형은 내용물에 잠겨 있는 tip의 erosion에 의한 시료오염 때문에 본 실험에서는 bath 형을 택하였다. Transducer에서 발생한 초음파가 반응기에 집중할 수 있게끔 transducer가 부착되는 철판을 평면으로 하지 않고 위로 볼록하게 제작하였다. Transducer는 20kHz(5×2.5cm 진동자 2개)로 출력이 200watt였다. 진동자에 직접 열이 가해지는 것을 피하기 위해 물이 들어가는 bath와 분리하였고 반응기가 bath에 놓이는 높이를 조절할 수 있도록 지지대를 만들었다. 반응조의 온도는 외부에서 항온조를 사용하여 원하는 온도보다 약간 높은 온도의 물을 순환시켜 원하는 반응온도로 조절하였다.

결과 및 고찰

반응기의 위치에 따른 초음파의 영향

초음파 반응에서 반응기는 bath의 밑면으로부터 수직으로 방사된 초음파 에너지가 반응기의 유리벽을 통과하여 반응에 참가하기 때문에 밑면이 평평한 삼각플라스크가 가장 적합하다고 알려져 있다(9). 이 때 bath로부터 반응에 참가한 에너지 양은 bath 크기, 반응기의 모양, 유리벽의 두께, bath에서 반응기의 위치에 따라 다르므로 정량적으로 정확히 알기 어렵다. 본 연구에서는 반응에 영향을 미치는 반응기의 영향과 벽 두께의 영향을 피하기 위해 모든 반응 실험 동안 같은 반응기(250ml의 pyrex brand)를 사용했고, bath 내 반응기의 위치는 Fig. 1에서 보여지는 바와 같이 반응기 지지대의 높이를 조절하여 실험하였고, 여기서 지지대가 더 이상 아래 방향으로 움직일 수 없을 때(즉 이때 지지대 밑 부분으로부터는 약 3.8cm, transducer로부터는 약 1.8cm 떨어져 있음), h=0으로 잡았다. 반응기를 초음파가 방사되는 부분에 직접 두지 않고 약간 사이를 두는 것은 초음파가 반응기 바닥에서 반사하여 다시 transducer로 들어가 transducer가 파손되는 것을 막고, 또 bath 바닥에 무거운 물체를 올림으로써 생기는 초음파에너지의 감소, 즉 damping효과를 막을 수 있기 때문이다. Fig. 2에서 bath 내 반응기의 위치에 따라 영향이 있음을 나타내고 또한 최적인 높이가 h=1cm임을 알 수 있다. 그래서 앞으로의 모든 실험은 h=1cm에서 반응기를 고정시켜 행하였다.

기계적 교반에 따른 효과

초음파의 진동에 따라 rarefaction과 compress-

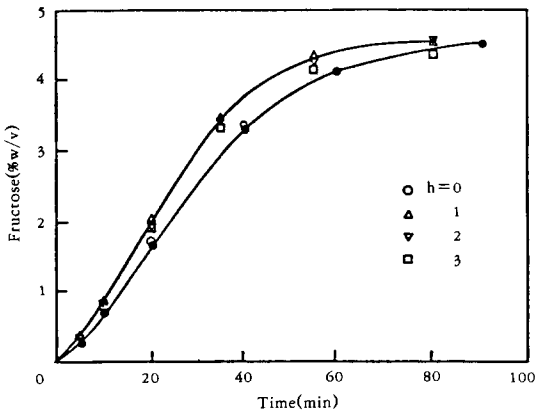


Fig. 2. Effect of reactor position inside bath on reaction rate at 55°C and 0.2% HCl (Open symbols: ultrasound reaction, closed symbols: control reaction).

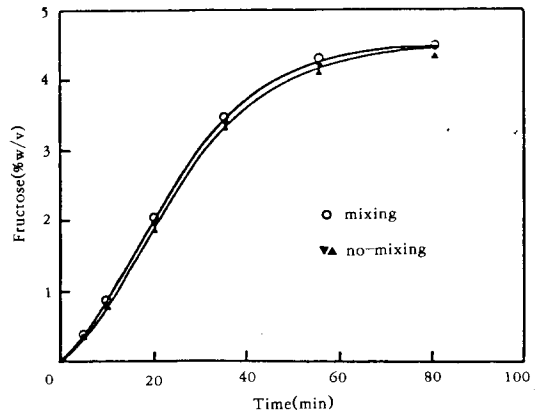


Fig. 3. Effect of mechanical agitation on ultrasound reaction rate at 55°C and 0.2% HCl.

ion주기가 반복되어 아주 작은 cavitation 기포가 무수히 생기고 터지고 하여 어느 정도 내용물이 섞일 것으로 예상되지만 초음파의 최대효과를 얻기 위해서는 외부에서 기계적인 교반이 필요하다(9). 특히 반응물이 분말상태인 경우에는 sonication 동안 반응물을 충분히 조사(irradiation)하기 위해 외부 교반이 중요하다. 본 실험에서 사용된 inulin은 분말 상태이지만 반응 시작 전까지는 모두 용해되거나 팽윤된 상태이다. Fig. 3과 4에서 “no-mixing”이란 반응 시작전까지는 외부 교반을 시켜 inulin을 용해시키고 산을 넣고 균일하게 분산시킨 직후 교반을 중지시킨 것을 의미한다. 많은 차이는 아니지만 약간의 기계적인 교반 효과가 있음을 알 수 있다. 그러나 Chen과 Kalback(10)은 HCl을 사용하여 methyl acetate를 가수분해시켰을 때 기계적인 교반이 반응속도에 별 효과가 없다고 발표하였다. 이와 같은 차이는 methyl acetate가 액체상태이고 분자량이 inulin에 비해서 아주 작기 때문이라고 생각된다. 이와 같은 현상은 Fig. 4에서 보여지는 바와 같이 초음파를 조사시키지 않고 반응시켰을 때 확실하게 알 수 있다. 초음파를 조사시켰을 때와 달리 상당한 외부 교반효과가 있음을 나타내었다. 이와 같은 사실로 추정해 볼 때 55°C에서 많은 양의 inulin이 물에 용해되지 않고 팽윤된 고체상태로 남아 있어 산과의 접촉을 위해서는 기계적인 교반이 필요함을 알 수 있다.

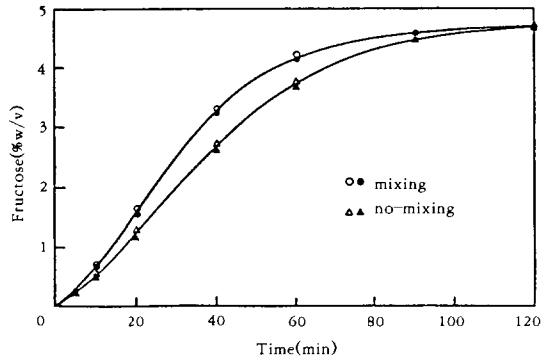


Fig. 4. Effect of mechanical agitation on control reaction rate at 55°C and 0.2% HCl.

Kinetics

Inulin의 산 가수분해 반응은 두 개의 연속된 1차 반응으로 다음과 같이 표시할 수 있다.

Inulin → Monomer sugars → HMF and other decomposition products

Dahlia 구근에서 추출한 inulin을 가수분해하여 얻은 monomer sugar의 대부분은 fructose이고 소량의 glucose(질량비로 약 4%)를 포함하고 있어 monomer sugar는 fructose로 가정했다. 또 당분해물의 지표(index)라 할 수 있는 HMF를 정확히 분석할 수 있는 UV detector로 분석한 결과 모든 시료에서 HMF는 검출되지 않았다. 위와 같은 실험결과로 다음과 같은 간단한 모델로 바꾸어질 수 있다.

Inulin(A) → Fructose(B)

균일 반응이므로 물질전달 저항은 없고 물이 과잉으로 존재하므로 반응속도식은 다음과 같이 간단하게 된다.

$$-\frac{dC_A}{dt} = kC_A \quad \text{or} \quad \frac{dC_B}{dt} = kC_B$$

반응에 미치는 인자로는 온도와 산의 농도 이외에 주파수, 용매의 영향, 용해된 기체와 양, 초음파의 강도, 외압, 분자량 영향, 가수분해 mechanism과 repolymerization 등이 있다(11). 화학적인 반응에 영향을 미치는 주파수는 20~50kHz이고 액체 속에서 계산된 파장의 길이는 7.5~5cm이므로 이들 파장의 길이가 화학결합의 길이 (bond length)보다 훨씬 길므로 광화학적인 경우에서처럼 시약과 파장 사이 직접적인 상호작용이 있는 것은 아니라고 알려져 있다(9). 그러나 주파수는 액체에서 cavitation의 강도에 영향을 미치기 때문에 반응속도에 영향을 줄 수 있다. Kristol 등(5)은 dextran 가수분해에서 transducer에 대한 power input이 상당히 다른 25kHz(0.4w/cm²)와 17kHz(200w/cm²)의 장치를 사용하여 17kHz 반응장치에서 구한 반응속도가 크다고 밝혔고, Schuchardt 등(6)은 Suger cane bagasse 가수분해에서 초음파 bath 크기나 강도가 다른 장치를 사용하여 실험했는데 주파수가 낮을수록 효과가 있다고 하였다. 일반적으로 주파수가 낮을수록 cavitation 강도가 높아 효과가 좋다고 할 수 있지만 다른 인자들과 상관관계 때문에 효과의 정도는 반응계에 따라 상당히 다를 것으로 예측된다. 용매의 영향으로는 점도 또는 표면장력, 그리고 증기압의 크기를 들 수 있고, 그리고 용매에 용해된 기체의 종류와 양은 반응계, 초음파의 강도는 사용된 초음파 장치에 따라 결정된다. 외압은 반응기 내에 걸린 압력을 이야기하는데 반응기에 따라 압력을 가할 수는 있지만 압력을 가하면 초음파의 강도를 증가시켜야 하므로 초음파 장치와 관련이 있다 하겠다. 분자량의 영향으로는 가수분해 물질의 분자량이 클수록 가수분해 속도가 커진다고 주장했고(7), 초음파에 의한 가수분해와 repolymerization mechanism은 반응물질, 생성물질 및 반응조건이 중요한 변수이지만 자세히 알려져 있지 않다. 위에서 열거한 변수들은 본 실험에서는 대부분 고정된다고 보면 반응속도에 미치는 가장 중요한 두 변수는 온도와 산의 농도라 할 수 있겠다.

사용한 온도와 산의 농도는 이제까지 발표된 inulin 가수분해에 사용된 조건(3, 4)보다 훨씬 완

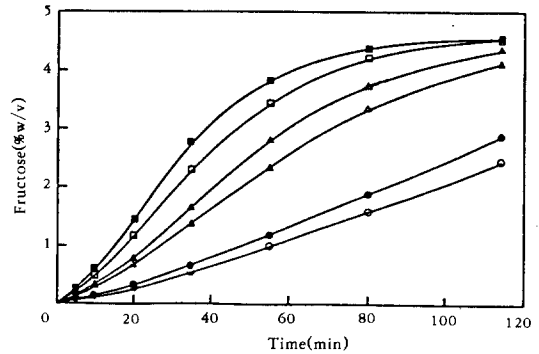


Fig. 5. Reaction progression at 50°C (Closed symbols: ultrasound reaction, open symbols: control reaction; ○ ● 0.1%, △ ▲ 0.2%, □ ■ 0.3%).

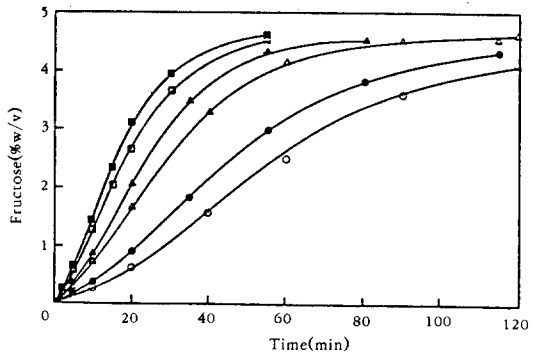


Fig. 6. Reaction progression at 55°C (Closed symbols: ultrasound reaction, open symbols: control reaction; ○ ● 0.1%, △ ▲ 0.2%, □ ■ 0.3%).

화된 조건, 즉 온도는 50~60°C, 염산의 농도는 0.1~0.3%(w/w)을 사용하였다. 이 조건에서 반응시간은 2시간 이내였고 fructose수율은 약 95% 이상이었다. Fig. 5~7에서 보여지는 바와 같이 모든 조건에서 control반응과 비교할 때 초음파의 효과가 있는 것으로 나타났다. 그리고 거대분자 물질을 가수분해시킬 때 나타나는 반응초기의 sluggish현상이 나타났다. 앞선 연구(3)에서도 이와 같은 현상이 나타나 반응초기 inulin은 높은 중합도를 가져 단당류인 fructose가 생성될 확률보다 oligomer가 생길 확률이 많고 반응이 진행됨에 따라 oligomer에서 fructose로 반응이 가속된다고 생각하여 수학적으로 묘사하여 반응초기의 sluggish현상을 규명한 바 있다.

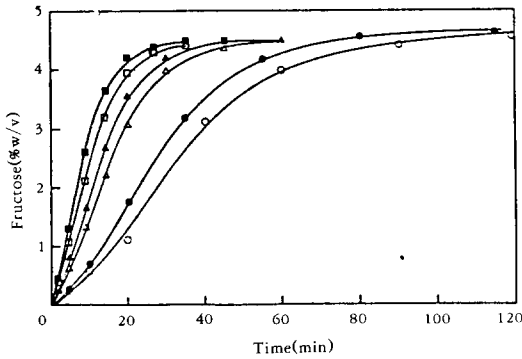


Fig. 7. Reaction progression at 60°C (Closed symbols:ultrasound reaction, open symbols: control reaction; ○ ● 0.1%, △ ▲ 0.2%, □ ■ 0.3%).

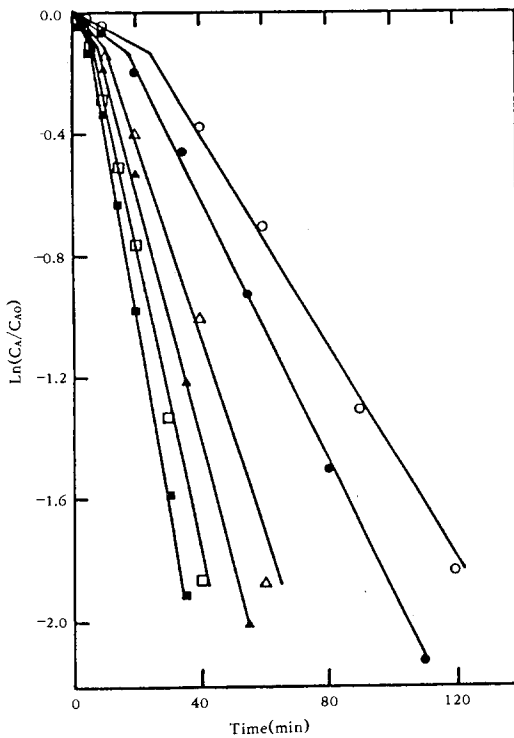


Fig. 8. Inulin hydrolysis at 55°C (Closed symbols: ultrasound reaction, open symbols: control reaction; ○ ● 0.1%, △ ▲ 0.2%, □ ■ 0.3%).

Table 1. Rate constants for control and ultrasound reactions and relative enhancements by ultrasound.

Acid conc.	Temp. Rate const.	50°C			55°C			60°C		
		k_u	k_c	k_u/k_c	k_u	k_c	k_u/k_c	k_u	k_c	k_u/k_c
0.1%		0.01	0.008	1.25	0.021	0.017	1.24	0.039	0.034	1.15
0.2%		0.022	0.018	1.22	0.04	0.032	1.25	0.071	0.057	1.25
0.3%		0.032	0.027	1.19	0.063	0.05	1.26	0.102	0.088	1.16

* Subscript u & c represent ultrasound and control reaction.

또 다른 이유로는 분자간의 반응성이 모두 같지 않고 양쪽 끝의 분자결합이 내부 분자 사이의 결합보다 더 가수분해되기 쉽다고 가정하여 설명할 수도 있다(12). 앞에서 inulin으로부터 fructose의 생성 반응이 1차라고 가정했지만, 초기 sluggish현상 때문에 전체 fructose 생성범위에서 1차로 실험 data를 해석할 수는 없고, Fig. 8에서 보여지는 것과 같이 두 개의 직선으로 나타낼 수 있다.

초기 반응속도는 지금까지 행한 실험으로는 보다 신뢰성 있는 속도상수를 구하기 힘들기 때문에 초기 이후 data를 이용하여 속도상수, k 를 구하여 Table 1에 수록하였다. 전체 반응조건에서 초음파의 효과가 있으며 초음파를 사용하지 않은 control반응에 대한 초음파의 효과를 k_u/k_c 로 표시하면 15~26%의 반응상승효과가 있다. 초음파의 반사 등 반응이 미치는 불확실한 효과를 감안한다면 평균 22% 정도의 상승효과가 있지만, 초음파에 의한 반응속도 상승효과 정도는 사용한 산의 농도와는 거의 무관한 것으로 나타났다. 이론적으로 초음파 반응에서 온도 증가는 용매의 증기압 증가와 점도 감소로 이어져 cavitation 강도를 감소시켜 초음파의 효과를 감소시키는 것으로 알려져 있다. 그러나 실제적으로는 cavitation이 생겨 수축되면서 기포가 터지는 과정에 여러 인자가 작용하기 때문에 이론과는 상당히 다르고, benzene용매에서 polymethyl methacrylate 분해의 경우 40~60°C 범위 내에서는 분해율이 거의 변화가 없고 80°C 이후에서는 급격히 떨어지는 것으로 발표되었다(11). Table 1에 나타난 k_u/k_c 도 50, 55°C에 비해 60°C의 경우 온도 영향이 약간 있는 것으로 생각할 수 있겠지만 반응에 도입된 초음파의 불확실한 효과를 생각한다면 거의 없다고도 이야기할 수 있겠다.

활성화에너지를 구하기 위해 $\ln k$ vs $1/T$ 의 그림 (Fig. 9)을 그리면 0.2, 0.3%의 경우 기울기가 거의

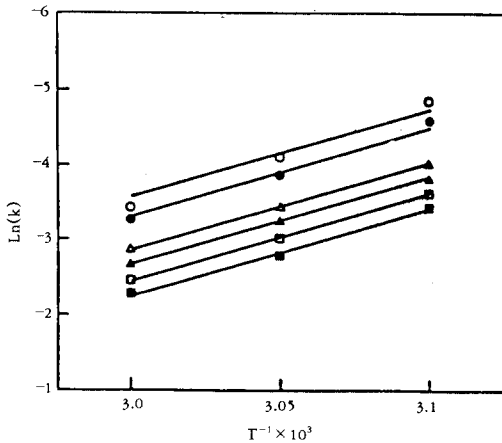


Fig. 9. Arrhenius plot.

같은 직선에 놓여지지만 0.1%의 경우는 기울기가 약간 다르다고 할 수 있겠다. 0.1% 경우와 나머지 경우의 가수분해 mechanism이 달라진다고 할 수 없으므로 regression 방법으로 활성화에너지를 구해보면 약 25kcal/mol이 된다. 이 값은 초음파를 사용해 dextran을 가수분해시킬 때의 30.3kcal/mol보다 낮고(5) 초음파를 사용하지 않은 sucrose inversion의 25kcal/mol과 거의 같다(13). 또한 초음파를 사용하거나, 하지 않거나 Fig. 9의 기울기, 즉 활성화에너지는 거의 같음을 알 수 있다. 이것은 Kristol 등(5)이 발표한 dextran 가수분해시 control반응일 때 30.1kcal/mol, 초음파 사용시 30.3kcal/mol, 그리고 Chen과 Kalback(10)이 methyl acetate 가수분해시 초음파를 사용하거나 하지 않거나 활성화에너지가 15.6kcal/mol로 같다고 발표한 것과 일치한다. 활성화에너지가 같다는 말은 앞에서 설명한 것과 같이 초음파의 파장이 20kHz 경우 7.5cm 정도 되므로 이보다 훨씬 길이가 짧은 fructose 사이의 화학결합에 직접 영향을 미치는 것은 아니고, 초음파 진동에 의한 cavitation의 증가로 인한 frequency factor의 증가로 설명할 수 있다.

요 약

부산물이 거의 생기지 않는 반응조건에서 inulin의 산 가수분해 반응에 미치는 초음파의 영향을 조사했다. 반응조건은 50~60°C와 염산 0.1~0.3% (w/w)의 상당히 완화된 범위였으며, 항온조 내 반

응기 위치와 기계적인 교반에 대한 영향을 조사했다. 초음파를 사용한 경우와 하지 않은 경우 fructose 생성속도를 온도와 산의 농도변화에 따라 비교했으며 두 경우 활성화에너지는 25kcal/mol로 같았다. 초음파에 의한 반응속도 증가는 평균 22%였다.

감 사

본 연구는 1992년도 교육부지원 한국학술진흥재단의 자유공모(지방대학육성)과제 학술연구조성비에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. S. E. Fleming and J. W. D. Grootwassink (1979), *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **12**, 1.
2. B. B. Chubey and D. G. Dorrell(1974), *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.*, **7**(2), 98.
3. S. B. Kim and Y. Y. Lee(1988), *App. Biochem. and Biotech.*, **17**, 55.
4. S. B. Kim, D. K. Lee and J. H. Choi(1990), *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **5**(4), 397.
5. D. S. Kristol, A. A. Khamls and R. C. Parker (1984), *I & EC Prod. Res. Dev.*, **23**, 74.
6. U. Schuchardt, I. Joeekes and H. C. Duarte (1987), *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, **39**, 115.
7. A. M. Basedow and K. H. Ebert(1979), *Polymer Bulletin*, **1**, 299.
8. U. Schuchardt and H. C. Duarte(1986), *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, **36**, 329.
9. T. J. Mason and J. P. Lorimer(1988), "Sonochemistry : Theory, Applications and Uses of Ultrasound in Chemistry", Ellis Horwood Limited.
10. J. W. Chen and W. M. Kalback(1967), *I & EC Fund.*, **6**(2), 175.
11. R. A. Pethrick(1991), "Advances in Sonochemistry(Ed. T. J. Mason), *Jai Press Ltd.*, Vol. 2, .
12. J. A. Rapley(1964), *Biochim. Biophys. Acta*, **83**, 245.
13. E. R. Gilliland(1971), *I & EC Fund.*, **10**(2), 185.