

Inulin의 산 가수분해 반응에 과산화수소가 미치는 영향

윤석준 · †김성배 · 농 · 최주홍 · 박영철
경상대학교 공과대학 화학공학과 및 생산기술연구소

Effect of Hydrogen Peroxide on the Acid Hydrolysis of Inulin

Suk-Joon Yun, Sung-Bae Kim,† Joo-Hong Choi and Young-Cheol Bak

Department of Chem. Eng. and Research Institute of Ind. Tech.
Gyeongsang National University, Chinju 660-701, Korea

ABSTRACT

Hydrogen peroxide has a characteristic of being dissociated rapidly into atomic oxygen and water when it is contacted with organic materials, resulting in a decrease in molecular weight of a polymer like carbohydrate. This effect on inulin hydrolysis under ultrasound irradiation was investigated. Maximum effect of hydrogen peroxide appeared at the H_2O_2 concentration of 2.3% (w/v) under the range of 50~60°C and 0.1~0.3% (w/w) HCl. Compared to control reactions, the promotion effect reached 9~43%. The activation energy, 26kcal/mol, of inulin hydrolysis with H_2O_2 addition was similar to that without H_2O_2 addition, 25kcal/mol. This implies that the rate enhancement of inulin hydrolysis with H_2O_2 addition is due to the increase of frequency factor.

서 론

최근 biomass를 이용하여 대체 에너지원인 알콜 생산에 관한 연구와 다당류인 탄수화물을 단당류로 전환시켜 식품산업에 이용하고자 하는 연구가 활발히 진행되고 있다. 이러한 공정의 전처리 과정으로 꼭 필요한 공정이 가수분해 공정이고, 일반적으로 촉매로는 효소나 산을 사용하고 있다. Inulin은 fructose의 고분자 물질로서 Jerusalem artichoke, Chicory, Dahlia 뿌리에 함유되어 있는 성분으로 일반적으로 중합도가 30 이상인 것을 말한다(1). Inulin을 가수분해하기 위해서는 inulase 혹은 inulinase와 같은 효소를 이용하는 방법과 산을 이용하

는 방법이 있다. 효소 가수분해 공정은 효소의 특이성 때문에 부산물이 생성되지 않는다는 장점이 있는 반면, 반응속도가 산 가수분해 공정에 비해 작고, 반응시간이 길다는 단점이 있다. 산 가수분해 공정은 효소 가수분해 공정에 비해 반응속도가 커서 반응시간이 짧은 대신 다른 부산물이 생성되는 문제점이 있다(1-5). 따라서 부산물 생성을 줄일 수 있는 방법을 찾는 것이 산 가수분해법에서 해결해야 할 최우선 과제이다.

산 가수분해 반응을 촉진시키는 방법으로 탄수화물 기질에 초음파를 사용하는 방법이 최근 연구되고 있다(6-11). 반응속도에 미치는 초음파의 영향은 cavitation에 의한 국부적인 온도와 압력의 상승, 기계적 교반 및 혼합의 증가, 그리고 음파에 의한 물의 이온화로 인한 수소 이온농도의 증가 등으로 설명되

† Corresponding Author

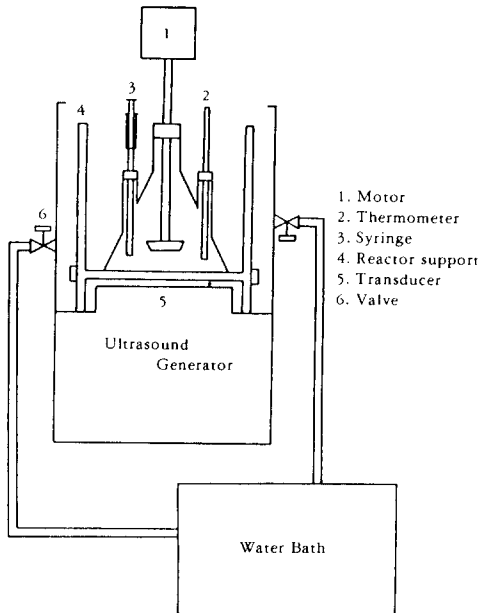


Fig. 1. Schematic diagram for reactor set-up

고 있다(12~13). Inulin의 산 가수분해 반응에 초음파를 보조 수단으로 사용하고, 좀더 완화된 반응 조건, 즉 낮은 온도(50~60°C), 저 농도(0.1~0.3%)의 산을 이용하면 부산물이 생성되지 않는다고 보고 되었다(6). 가수분해 반응을 촉진시키는 또 다른 방법으로 과산화수소를 첨가하여 반응시키는 방법이다. 과산화수소는 수용액상에서 분해되어 산화제 역할을 하며, 탄수화물과 같은 고분자 물질을 저분자 물질로 분해하는 성질이 있는 것으로 알려져 있다(14).

본 실험에서는 초음파를 inulin의 산 가수분해 반응의 보조 수단으로 사용하고, 과산화수소를 첨가하여 산 가수분해 반응에서 반응속도에 미치는 영향을 알아보고자 한다.

재료 및 방법

반응장치

초음파 장치로는 내용물에 직접 조사(irradiation)하는 horn형이 간접적인 조사방법인 bath형보다 반응속도를 증가시킬 수 있으나, horn형은 내용물에 잠겨 있는 tip이 시료를 오염시키는 단점이 있기 때문에 본 실험에서는 bath형을 택하였다. 실험에 사

용된 반응장치는 Fig. 1에 나타난 바와 같고, 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 반응온도로 조절하였다.

실험방법

다알리아 뿌리에서 추출된 inulin(Sigma Chemical 제품)을 30분간 건조기(65°C)에서 건조시킨 후, 산과 증류수를 포함하여 질량비가 5%(w/w)가 되도록 inulin용액을 만들었다. 산은 염산을 0.1~0.3%(w/w)범위에서 사용하였고 반응온도는 50~60°C 범위였다. 반응기는 Fig. 1에 보여지는 바와 같이 가지 달린 플라스크를 사용했는데, 먼저 반응기에 inulin분말을 넣고 증류수를 부어 항온조에 넣고 기계적인 교반을 시키면서 원하는 온도까지 도달한 후 5분간 탈기시켰다. 이 기간 동안 inulin이 가수분해되지 않음을 분석을 통해 확인하였다. 가수분해 반응은 HCl용액 약 1ml를 넣었을 때 반응기 내 용액이 원하는 산 농도가 되게끔 주사기(Hamilton Gastight 1ml)로 미리 계산된 농도와 부피의 염산 용액과 35%의 과산화수소를 넣었을 때 최종용액에서 원하는 농도가 되도록 과산화수소 용액을 동시에 주입하여 반응을 시작하였다. 이때 과산화수소를 먼저 넣게 되면 반응기 속에 들어가자마자 급격히 분해하여 반응이 시작되기 때문에 산과 동시에 주입하여야 한다. 그리고 냉암소에 보관하고 있는 과산화수소를 바로 사용할 경우 반응기 내부의 온도가 떨어지므로 과산화수소를 상온에서 미리 방치한 후 사용하였다. 반응 시작 후 원하는 시간에 시료를 채취하여 Ba(OH)₂로 중화시킨 후 두 번의 원심분리기(3000rpm과 15000rpm)를 사용해 분석용 시료를 준비하였다. 과산화수소의 효과를 비교하기 위해 초음파와 과산화수소를 함께 사용한 반응과 초음파만을 사용하여 반응("control 반응"이라 함)시켰다. 분석은 HPLC(Water Associate)를 사용하여 fructose는 RI detector로, hydroxymethyl furfural(HMF)은 RI와 연결된 UV detector로 측정하였다. Column은 Biorad HPX-87C를 사용하였다.

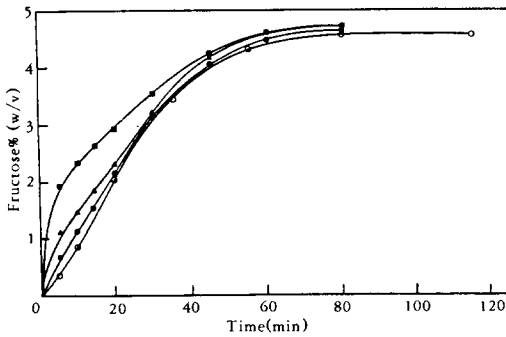


Fig. 2. Effect of hydrogen peroxide concentration on reaction rate at 55°C and 0.2% HCl(control reaction:○, 1.1%(v/w)H₂O₂:●, 2.3%(w/v)H₂O₂:▲, 3.8%(w/v)H₂O₂:■)

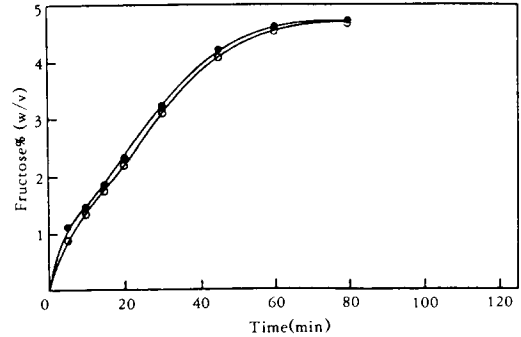


Fig. 3. Comparison of open and closed reactor system on reaction rate at 55°C and 0.2% HCl(open system:○, closed system:●)

Table 1. Rate constants and relative enhancements for different concentrations of hydrogen peroxide.

H ₂ O ₂ %(w/v)	1.1%	2.3%	3.8%
k			
k _{HP}	0.045	0.053	0.054
k _{HP} /k _C	1.13	1.32	1.35

k_{HP}=rate constant for reaction with ultrasound and H₂O₂
 k_C =rate constant for control reaction

결과 및 고찰

과산화수소의 농도가 반응에 미치는 영향

과산화수소는 일반적으로 약산성으로 알칼리성 물질이나 유기성 물질과 접촉하면 급속히 분해되고, 열을 가하면 분해가 촉진되는 성질을 가지고 있다. 과산화수소의 농도 변화에 따른 반응속도를 보기 위하여 초음파를 조사시키면서 과산화수소 농도를 1.1%(w/v), 2.3%(w/v), 3.8%(w/v)로 변화시켜 반응시간에 따른 fructose 생성량을 측정하였다. Fig. 2에서 보는 바와 같이 과산화수소 농도가 증가함에 따라 반응속도가 증가함을 알 수 있었다. 최적의 과산화수소 농도를 알아보기 위하여 상대적인 반응속도(k_{HP}/k_C)의 증가를 Table 1에 수록하였다(반응속도 상수를 구하는 방법은 “반응속도의 비교”에서 논의 하였음). 과산화수소 농도가 증가함에 따라 k_{HP}/k_C값 또한 증가하였지만, 3.8%(w/v)의 경우 2.3%(w/v)에 비해 증가율이 작아서 과산화수소 농도를

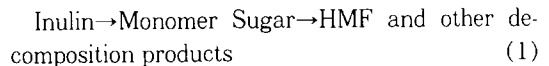
2.3%(w/v)로 고정하여 실험을 하였다.

반응기 밀폐시 반응에 미치는 영향

과산화수소는 물과 산소로 분해가 되면서 발생기 산소가 발생되는데 이때 반응기의 내부 압력이 상승된다. 용액속에 녹아 있는 발생기 산소가 반응에 영향을 미친다고 생각하면 반응기를 밀폐시킬 경우, 밀폐시키지 않을 경우보다 더 좋은 효과가 있을 것으로 기대된다. 그래서 초음파를 조사시키면서 반응기를 밀폐시킨 경우와 밀폐시키지 않은 경우에 반응 진행속도를 비교해 보았다. Fig. 3에서 보여지는 바와 같이 그렇게 큰 차이는 아니지만, 밀폐시킨 경우가 밀폐시키지 않은 경우보다 반응속도가 컸다. 이와 같은 반응속도 차이는 여러 차례의 실험을 통하여 일관성 있게 나타나 모든 실험에서 반응기를 밀폐시켰다.

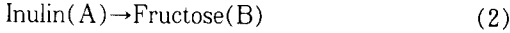
반응속도의 비교

Inulin의 산 가수분해 반응경로는 두 개의 연속된 1차 반응으로 다음과 같이 나타낼 수 있다.



Dahlia 구근에서 추출한 inulin을 가수분해하여 얻은 생성물은 질량비로 약 96%가 fructose(나머지 glucose)로 밝혀져 monomer sugar는 fructose로 가정했다. 그리고 당분해시 부산물인 HMF를 UV detector로 분석한 결과 모든 시료에서 검출되지 않았기 때문에 inulin의 산 가수분해 반응 모델은 앞선 연구(6)에서처럼 다음과 같이 간단하게 나타낼

수 있다.



본 실험은 균일 반응이므로 물질전달저항이 없고, 물이 과잉으로 존재하기 때문에 반응속도식은 다음과 같이 간단하게 된다.

$$-\frac{dC_A}{dt} = kC_A \text{ or } \frac{dC_B}{dt} = kC_A \quad (3)$$

반응에 미치는 인자로는 온도와 산의 농도, 초음파의 주파수, 용매의 영향, 용해된 기체의 양, 초음파의 강도, 외압, 분자량의 영향, 가수분해 mechanism과 repolymerization 등이 있다(11-12). 여기서 초음파와 관련된 인자들 즉, 초음파의 주파수, 초음파의 강도, 외압 등은 장치와 관련되어 있다고 볼 수 있으므로 본 실험의 반응속도에 영향을 주는 인자는 앞선 연구(6)와 마찬가지로 온도와 산의 농도라 할 수 있다.

본 실험에서 사용된 반응조건은 지금까지 발표된 inulin의 가수분해 반응에 사용된 반응조건(3)에 비해 아주 완화된 조건이다. 온도의 경우 50~60°C, 염산의 농도는 0.1~0.3% (w/w)였다. 초음파만을 사용한 경우에는 초음파를 조사시키지 않은 경우에 비해 반응시간이 단축되었고, fructose수율은 95% 이상이었다(6). 이에 비해 초음파와 과산화수소를 동시에 사용한 경우에는 Fig. 4~6에서 보는바와 같이 최대 농도에 도달하는 반응시간이 control 반응에 비해 많이 단축되어 과산화수소가 반응속도를 증가시킴을 알 수 있었다.

또한 탄수화물과 같은 거대분자 물질이 가수분해될 때 일반적으로 반응초기에 sluggish현상이 관찰되었지만(3, 6), 과산화수소를 사용하는 경우의 초기 반응속도는 상대적으로 초기 이후에 비해 커서 반응초기 이후에 sluggish현상이 나타났다. 이와 같은 현상은 과산화수소를 반응기에 주입한 즉시 용액속에서 과산화수소의 농도는 최고치에 도달했다가 그 이후 상당량의 과산화수소가 기체화되어 용액속에 잔류하는 과산화수소의 농도가 평형에 도달하기 때문이라고 설명할 수 있겠다. 그래서 Fig. 4의 실험 결과를 반응시간에 따라 $\ln(C_A/C_{A0})$ 값을 Fig. 7과 같이 나타내면 원점을 통과하지 않는 두 개의 직선을 얻을 수 있다. 그러나 이 직선이 원점을 통과하지 않기 때문에 원점과 첫번째 직선을 나타내는 실험치로부터 (3)식을 사용하여 초기의 반응속도상수를 구하기도 불가능하다. 이와 같은 현상은 55°C와 60°C

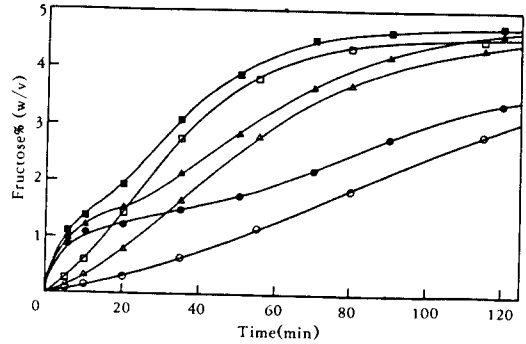


Fig. 4. Reaction progression at 50°C(control reaction(open symbols) and reaction with H₂O₂ (closed symbols); 0.1% HCl:○●, 0.2% HCl:△▲, 0.3% HCl:□■)

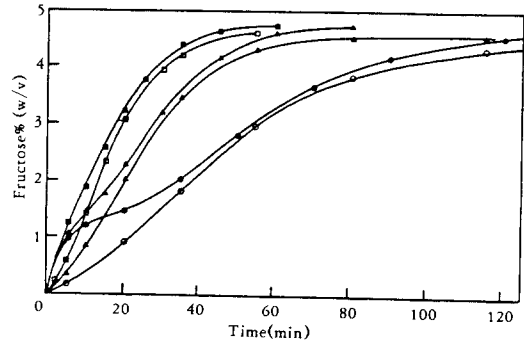


Fig. 5. Reaction progression at 55°C(control reaction(open symbols) and reaction with H₂O₂ (closed symbols); 0.1% HCl:○●, 0.2% HCl:△▲, 0.3% HCl:□■)

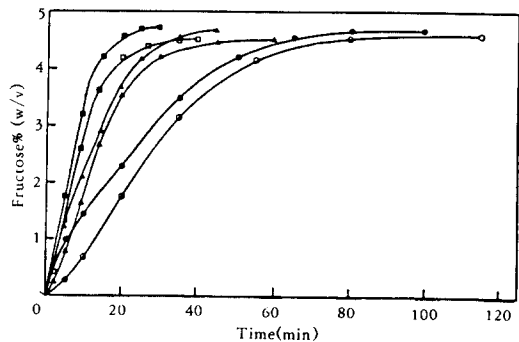


Fig. 6. Reaction progression at 60°C(control reaction(open symbols) and reaction with H₂O₂ (closed symbols); 0.1% HCl:○●, 0.2% HCl:△▲, 0.3% HCl:□■)

Table 2. Rate constants and relative enhancements.

Conc. of Acid		Temp.	50°C			55°C			60°C		
			k_c	k_{HP}	k_{HP}/k_c	k_c	k_{HP}	k_{HP}/k_c	k_c	k_{HP}	k_{HP}/k_c
0.1%	HCl		0.010	0.011	1.10	0.021	0.024	1.14	0.039	0.048	1.23
0.2%	HCl		0.022	0.024	1.09	0.040	0.053	1.33	0.071	0.098	1.38
0.3%	HCl		0.032	0.039	1.22	0.063	0.085	1.35	0.102	0.146	1.43

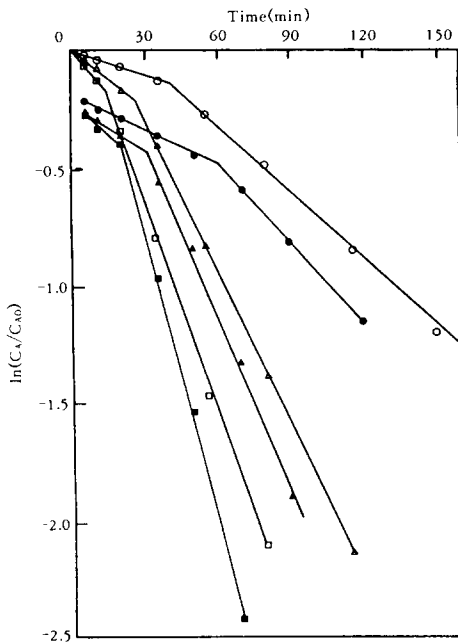


Fig. 7. Inulin hydrolysis at 50°C (control reaction (open symbols) and reaction with H_2O_2 (closed symbols); 0.1% HCl: ○●, 0.2% HCl: △▲, 0.3% HCl: □■)

에서도 50°C에서 얻어진 결과와 마찬가지로 원점을 통과하지 않은 두 개의 직선으로 나타났다. 그러므로 (2)식으로 표시된 반응모델은 1차 반응으로 나타낼 수 없지만, 과산화수소 첨가반응과 control반응을 비교하기 위해 inulin이 어느 정도 가수분해된 후 [3]식이 성립한다고 가정하면, 두번째 직선으로 부터 구한 반응속도 상수는 Table 2와 같이 나타낼 수 있다.

Table 2를 살펴 보면 반응 전체에서 과산화수소의 효과가 있음을 알 수 있다. Control 반응과 비교해 볼 때 과산화수소에 의한 반응속도 상승효과, 즉 k_{HP}/k_c

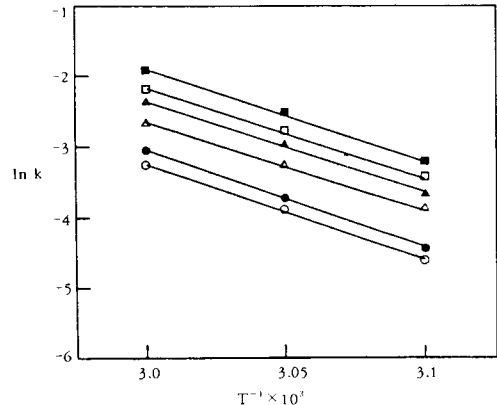


Fig. 8. Arrhenius plot (control reaction: open symbols, reaction with H_2O_2 : closed symbols)

k_c 가 109~143%로 온도와 산의 농도에 따라 다르게 나타났다. 앞선 연구(6)와는 달리 Table 2를 보면 과산화수소에 의한 반응속도 상승효과의 정도, 즉 k_{HP}/k_c 가 산의 농도에 따라 약간 증가하는 것으로 나타났고, 온도 변화에 따른 상승효과의 정도는 반응온도가 상승함에 따라 증가하는 것을 알 수 있었다. 그러나 온도 증가에 따른 초음파의 영향은 이론적으로는 온도가 증가함에 따라 용매의 증기압 증가와 점도의 감소로 인해 cavitation의 강도가 줄어들어 초음파가 반응에 미치는 효과를 감소시키는 것으로 알려져 있다(11). 그러나 실제로 초음파에 의해 기포가 형성되어 터지는 과정에서 여러 가지의 인자가 작용하기 때문에 반응 system에 따라 이론과는 상당히 다른 결과를 보인다(12).

본 실험에서의 활성화 에너지를 구하기 위해서 $\ln k$ vs $1/T$ 의 graph를 그려 Fig. 8에 나타내었다. 초음파 반응의 경우 약 25kcal/mol, 초음파와 과산화수소를 동시에 반응에 적용한 경우에는 약 26kcal/mol로 거의 같았다. 이것은 앞선 연구(6)에서도 밝혔듯이 반응속도의 증가는 frequency factor의 증가로 설명할 수 있다(Table 3). 초음파와 과산화수소

Table 3. Frequency factors determined from the Arrhenius plot.

Frequency Conc. of Acid	Fac.	Reaction without uitrasound and H ₂ O ₂	Control reaction	Reaction with ultrasound and H ₂ O ₂
0.1%	HCl	6.7×10^{13}	9.6×10^{13}	1.6×10^{14}
0.2%	HCl	7.5×10^{13}	1.3×10^{14}	2.9×10^{14}
0.3%	HCl	7.8×10^{13}	1.4×10^{14}	4.4×10^{14}

를 사용하지 않은 반응, control 반응, 그리고 초음파와 과산화수소를 동시에 사용한 반응을 비교하면 frequency factor의 크기가 초음파와 과산화수소를 동시에 사용한 반응이 가장 크고, control 반응, 그리고 아무것도 사용하지 않은 반응의 순으로 나타났다. 그러므로 본 실험에서 반응속도 상승효과는 초음파의 진동에 의한 cavitation의 증가와 과산화수소의 첨가로 인한 물리·화학 작용으로 인한 frequency factor의 증가로 설명할 수 있다.

요 약

과산화수소는 유기물에 접촉시에 물과 산소로 급속하게 분해되어 탄수화물과 같은 고분자물질을 저분자물질로 분해하는 특성을 지니고 있다. 이러한 특성이 inulin의 산 가수분해 반응에 미치는 영향을 초음파를 조사시키면서 연구하였다. 반응조건은 온도가 50~60℃, 염산의 농도가 0.1~0.3% (w/w) 였고, 이 조건하에서 과산화수소 농도가 2.3% (w/v) 일 때 가수분해 효과가 최대로 나타났다. 과산화수소의 첨가로 control 반응에 비해 9~43%의 분해속도 증가를 보였다. 과산화수소를 첨가했을 경우와 첨가하지 않았을 경우에 활성화에너지는 각각 26kcal/mol과 25kcal/mol로 거의 동일하였다. 따라서 과산화수소에 의한 inulin 가수분해 속도의 상승효과는 frequency factor의 증가로 해석되었다.

참 고 문 헌

1. S. E. Fleming and J. W. D. Grootwassink (1979), *CRC Critical Review 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. N. Kosaric, A. Wiczorek, G. P. Cosentino and Z. Duvnjak(1985), *Advanced in Biochemical Eng.*
5. M. Kierstan(1980), *Process Biochemistry*, **5**, 31.
6. S. B. Kim and S. J. Yoon(1993), *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **8**(4), 358.
7. D. S. Kristol, A. A. Khamls and R. C. Parker (1984), *Ind. Eng. Chem. Prod. Res. Dev.*, **23**, 73.
8. A. M. Basedow and K. H. Ebert(1979), *Polymer Bulletin*, **1**, 299.
9. U. Schuchardt and H. C. Duarte(1986), *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, **36**, 329.
10. J. W. Chen and W. M. Kalback(1967), *I & EC Fund.*, **6**(2), 175.
11. J. H. Choi and S. B. Kim(1994), *Korean J. of Chem. Eng.*, **11**(3), 178.
12. T. J. Mason and J. P. Lorimer(1988), "Sonochemistry: Theory, Applications and Uses of Ultrasound in Chemistry," Ellis Horwood Limited.
13. R. A. Pethrick(1991), "Advances in sonochemistry"(Ed. T. J. Mason), Jai Press Ltd., **2**.
14. W. C. Schumb, C. N. Satterfield and R. L. Wentworth(1955), "Hydrogen peroxide," p. 596, Reinhold Publishing Corp.