

고온고압수 반응을 이용한 생선내장의 아미노산 생성거동

강길윤 · †전병수
부경대학교 식품생명공학부 수산식품연구소
(접수 : 2003. 8. 28. 게재승인 : 2003. 12. 24.)

Production Behavior of Amino Acid from High Temperature and High Pressure Water Reaction of Fish Entrails

Kil Yoon Kang and Byung Soo Chun†
Institute of Seafood Science, Faculty of Food Science & Biotechnology,
Pukyung National University, Pusan 608-737, Korea
(Received : 2003. 8. 28. Accepted : 2003. 12. 24.)

The effect of operating parameters (reaction temperature and time) and reaction modes (batch and semi-batch) on the behavior of amino acid production from hydrothermal decomposition of fish-derived wastes was investigated. The amino acids obtained in batch experiments at temperature of 250°C were mainly alanine (Ala) and glycine (Gly) at maximum yield of 65 and 28 mg/g-dry fish, respectively. At relatively lower temperature of 200°C, the yield of high-molecular-weight amino acids such as aspartic acid (Asp) and serine (Ser) is high, but decreases as temperature increases. It is likely that high-molecular-weight amino acids decompose faster than low-molecular ones. Semi-batch mode of reaction suppressed decomposition of amino acids into organic acids (or volatile materials) by continuously removing the products from the reaction zone as soon as they are formed. Thus, large amount of high-molecular-weight amino acids such as Asp and Ser at this reaction mode was observed.

Key Words : Hydrolysis, proteins, amino acids, hydrothermal reaction

서론

고온고압수 (아임계 및 초임계 수)는 반응매체로 작용하는 물의 물성으로 인해 최근 많은 과학자들로부터 주목을 받아 오고 있다(1), 초임계 수는 일반적인 온도, 압력에서의 물과는 전혀 다른 특성을 지니며 물의 유전상수는 반응매체로서 반응물에 대한 친화력으로 표현되어진다. 이 값은 온도 및 압력의 변화에 의해 제어가 가능하며, 다양한 화합물과의 반응성에 큰 영향을 미친다. 또한 물의 이온 적 (K_w)은 가수분해 반응을 촉진시키는 반응인자로 온도와 압력을 변화시킴으로 제어가 가능하며, 높은 이온 적은 가수분해 반응을 보다 촉진시키는 역할을 하게 된다.

이러한 물의 특성을 이용한 고온고압수의 반응은 탈수, 분해 및 환원반응 등의 광범위한 분야에 사용되어져 왔다(2). 예를 들어, phenol, pyridine 및 methanol의 산화(3, 5) 등의

반응매체로 사용되어져 왔으며 또한 폐수처리(6) 및 독성 유기물질의 분해(7) 등에도 응용되어져왔다. 최근에는 재자원화 기술과 관련하여 plastics(8)이나 cellulose(9) 등과 같은 유기성 폐기물로부터 유용물질을 회수하기위한 일련의 연구가 수행 되어져 왔다. 한편 수산식품 공정결과 발생하는 폐기물을 이용한 자원회수의 분야로서는 Yoshida 등(10)과 Kang 등(11, 12)이 아임계 수 가수분해 반응에 의해 유기산 및 아미노산의 생성에 관해 검토하였다. 실용화와 관련하여 Arai 등(13)은 polyethylene terephthalate (PET)를 가수분해하여 ethylene glycol 및 terephthalic acid로 전환하는 chemical recycling process(11)에 관해 검토하였으며 또한 독성 폐기물과 관련된 분야는 small-scale에 실용적임을 시사하고 있다(7).

상술한 바와 같이, 고온고압수 처리공정의 실용화에 있어서 반응에 영향을 미치는 다양한 반응인자에 관한 정보는 공정과정에서 중요한 요소로 부각되어진다. 이러한 반응인자 중 특히 온도와 시간이 고온고압수 반응에 있어서 제일 중요한 요소로 보고 되고 있으나(9), 실제 process의 설계를 위해서는 다양한 조작 모드 (operating mode)에 있어서 각 반응에 따르는 생성물 조성 및 수율에 관한 상호 관련성이 검토되어야 한다.

따라서 본 연구에서는 생선 폐기물로부터 아미노산을 회수

† Corresponding Author : Institute of Seafood Science, Faculty of Food Science & Biotechnology, Pukyung National University, Pusan 608-737, Korea

Tel : +82-51-620-6428, Fax : +82-622-9248

E-mail : bschun@pknu.ac.kr

할 수 있는 고온고압수 반응의 실용화를 위한 기초연구로, 다양한 반응조건 (온도 및 시간)과 반응모드 (회분식, 반회분식)에서 가수분해 반응에 의해 생성되는 아미노산의 생성 및 수율과 관련된 반응거동에 대하여 검토하였다. 아미노산의 생성거동과 관련하여 회분식 반응기를 이용한 실험에서는 반응온도 및 시간의 효과에 대한 검토를 행하였으며, 이 결과를 바탕으로 반회분식 반응기에서는 고형물의 연속처리와 관련된 단 시간 반응에 대해 검토하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용된 시료는 수산식품공장에서 발생하는 조기 (Scientific Name: *Argyrosomus argentatus*)의 내장으로, 실험을 행하기전 믹서 (CQM-N1, Toshiba Co.)를 이용하여 최대속도로 5분간 내장의 균일화를 행하였으며 그 후 -21°C 의 냉동고에 보존하였다.

실험장치 및 방법

본 실험에 사용한 회분식 및 반회분식 반응장치와 실험방법은 Kang 등(13, 14)이 사용한 방법과 동일한 방법을 사용하였다. 간략하게 요약하면, 회분식 실험의 경우 내장 0.05 g과 1 g의 초 순수 (중량비 = 1 : 20)를 반응기에 장입하여 밀폐함과 동시에 반응관 내부의 공기를 제거하였다. 그 후 반응기를 미리 예열된 용융 염 욕조 (molten salt bath)에 침지하여 필요로 하는 시간동안 반응을 행한 후 반응기를 냉각함으로써 반응을 종료하였다.

Rapid sample injection system을 도입한 반회분식 실험의 경우, 미리 원하는 반응조건 (온도, 압력 및 유량)에 도달한 후 약 2.5 g의 시료를 장입한 capsule을 반응기 내부로 낙하시켰다. 반응기 내부로 샘플을 낙하한 후, sampling port로 흐르는 반응기 하부의 관의 체적과 일치하는 96 cm^3 의 이온수는 어떠한 유기물질도 검출되지 않았기 때문에 무시하였다. 그 후 sampling port를 통해 반응 생성물을 2분 동안 연속적으로 회수하였다.

분석방법

아미노산 및 유기산은 아미노산 분석기 (LC-10AD, Shimadzu Co.)와 유기산 분석기 (LC-10A, Shimadzu Co.)를 각각 사용하였다. 아미노산 분석기의 경우, ion exclusion column (Shim-pack Amino-Na, Shimadzu Co.)과 post-column labeling method의 조합으로 구성되어 있으며 유기산 분석기는 ion exclusion column (Shim-Pack SCR-102H, Shimadzu Co.)과 전기전도도 검출기 (CDD-6A)로 구성되어 있다. 이 유기산 분석기는 2~5 범위의 해리상수 (pKa)를 가지는 유기산과 탄소수 5 이하의 유기산을 분석할 수가 있다. 아미노산 분석의 경우, chromatographic system의 최적성능을 위하여 한의 여과막 (30,000 fractional molecular weight, Millipore Ultra Free C3)을 이용하여 반응 생성물을 여과 한 후 17종류의 아미노산을 분석하였으며 또한 반응 생성물의 총 유기탄소 (total organic carbon, TOC)의 농도는 TOC 분석계 (TOC-500, Shimadzu Co.)를 사용하였다.

결과 및 고찰

반응의 온도의존성

회분식 반응기를 사용하여 아미노산의 생성율에 영향을 미치는 반응온도의 효과에 대해 검토를 행하였으며, Fig. 1에 총 아미노산의 수율에 영향을 미치는 반응온도의 효과를 나타내었다. 실험은 반응온도 $200\sim 450^{\circ}\text{C}$ 의 범위 내에서 60분간 수행하였다. 그림에 나타난 바와 같이 다른 아미노산 (others)은 13종류의 아미노산을 나타내며 본 실험에서는 포화증기압 선상에서의 반응거동을 보기 위하여 아임계 조건에서의 압력은 포화 증기압을 설정하였다.

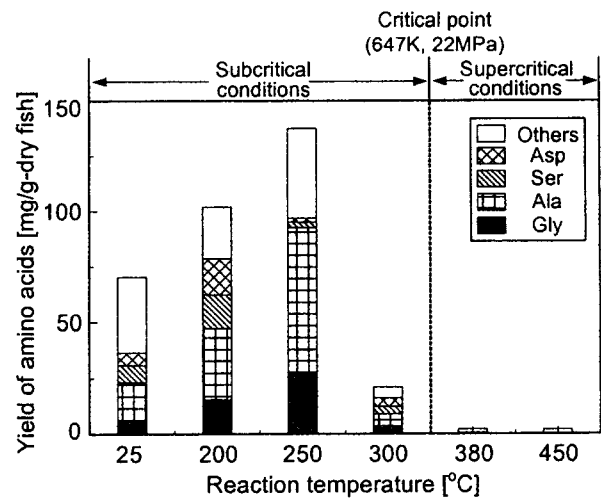


Figure 1. Effect of reaction temperature at sub- and supercritical conditions on the yield of amino acids in batch experiments (reaction time = 60 min).

그림에 표현하는 바와 같이 총 아미노산의 생성율은 250°C ($P = 4\text{ MPa}$)에서 최대치 (137 mg/g-dry fish)를 얻을 수 있었으며 주 생성물은 glycine (Gly), alanine (Ala)으로 수율은 $\text{Ala} > \text{Gly}$ 의 순으로 각각 65, 28 mg/g-dry entrails를 얻을 수 있었다. 이는 높은 물의 이온 적으로 인해 가수분해 반응이 촉진된 것으로 판단된다. 한편 상대적으로 저온인 200°C ($P = 2\text{ MPa}$)의 조건에서는 aspartic acid (Asp) 및 serine (Ser)과 같은 비교적 고분자량의 아미노산이 증가하는 경향을 보였으나 온도증가와 더불어 감소하는 경향을 나타내었다. 이 결과로부터 고온의 반응조작보다 저온의 반응조작에서는 생성된 아미노산이 분해하여 유기산과 같은 다른 유기물질로의 전환을 제어할 수 있음을 시사하고 있으며, 또한 Asp 및 Ser과 같은 고분자량의 아미노산을 얻기 위해서는 저온의 반응조건을 선택하는 것이 바람직 한 것으로 판단된다. 한편 300°C ($P = 9\text{ MPa}$)이상의 고온에서는 아미노산의 생성속도보다 빠른 분해속도에 기인하여 총 아미노산의 수율이 상대적으로 급격히 감소함을 알 수 있었다.

반응시간의 효과

상술한 바와 같이 총 아미노산의 최대수율은 아임계 조건 (250°C , 4 MPa)에서 얻을 수 있었다. 이 결과를 바탕으로 아

미노산의 생성율과 관련된 반응시간의 효과를 초임계 조건 (380°C, 45 MPa)과 비교 및 검토하였으며 그 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 그림에서 표현하는 점선은 실험 샘플인 생선 내장에 함유되어있는 유리 아미노산의 양으로 25°C에서 60분간 추출하였으며 Fig. 1에서 표현한 25°C에서의 아미노산과 동일한 양으로 설명할 수 있다. 250°C (4 MPa)에서 아미노산의 생성량은 반응시간의 증가와 더불어 증가함을 알 수 있으며 반응시간 60분에서 아미노산의 생성율은 유리 아미노산에 비해 약 2배 증가함을 알 수 있다. 한편 380°C (45 MPa)의 반응조건에서는 아미노산의 생성반응보다는 빠른 분해반응에 기인하여 유기산과 같은 다른 유기 화합물로의 전환을 유발하며, 결과적으로 아미노산 수율의 감소와 더불어 생성된 아미노산은 유리 아미노산의 양보다 저하함을 알 수 있다. 이와 관련하여 250°C와 380°C의 반응조건에서 저 분자 carboxylic acid의 형성에 관한 검토를 행하였으며 그 결과를 Fig. 3에 나타내었다. 상대적으로 저온인 250°C에서도 저 분자 carboxylic acid가 생성되었으며 반응시간 60분에서 60 mg/g-dry fish을 얻을 수 있었다. Formic, acetic, propionic 및 succinic acid이 주된 생성물이었으며 온도 및 시간의 증가와 더불어 acetic acid의 수율은 증가하였으나 그 외의 유기산은 감소하였다. 아미노산의 분해 생성물 중 특히 acetic acid의 경우, 380°C의 높은 반응온도에도 불구하고 안정성을 보여주고 있다. 이와 관련해 holgate 등(14)은 산화제 존재 하에서도 acetic acid는 쉽게 분해 되지 않음을 입증하고 있다. 그 외의 다른 유기산의 감소는 반응시간의 증가와 더불어 더욱이 분해하여 CO₂나 CO와 같은 휘발성 물질 또는 물로 전환된 것을 암시하고 있다.

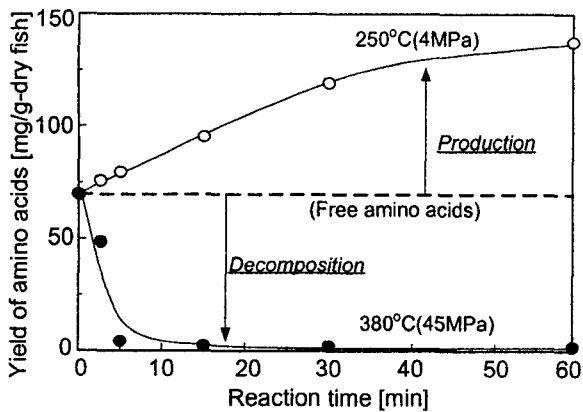


Figure 2. Yield of total amino acids against reaction time at 250°C (4 MPa) and 380°C (45 MPa).

이상의 회분식 실험 결과로부터 높은 수율의 아미노산을 얻기 위해서는 온도에 따르는 반응시간의 적절한 제어가 필요한 것으로 판단된다. 다시 말해서 생선 내장에 존재하는 단백질의 가수분해 반응을 보다 촉진시키고 더불어 생성된 아미노산의 분해를 최대한 제어하기 위하여 유기산과 같은 다른 생성물로 분해되기 이전에 반응영역으로부터 회수할 수 있는 공정이 필요한 것으로 판단된다. 아울러 생선 폐기물과 같은 고형물과 관련하여 보다 안정된 고온고압수의 반응조건에서 고형물의 처리를 위한 보다 세부적인 검토가 필요한 것

으로 사료된다.

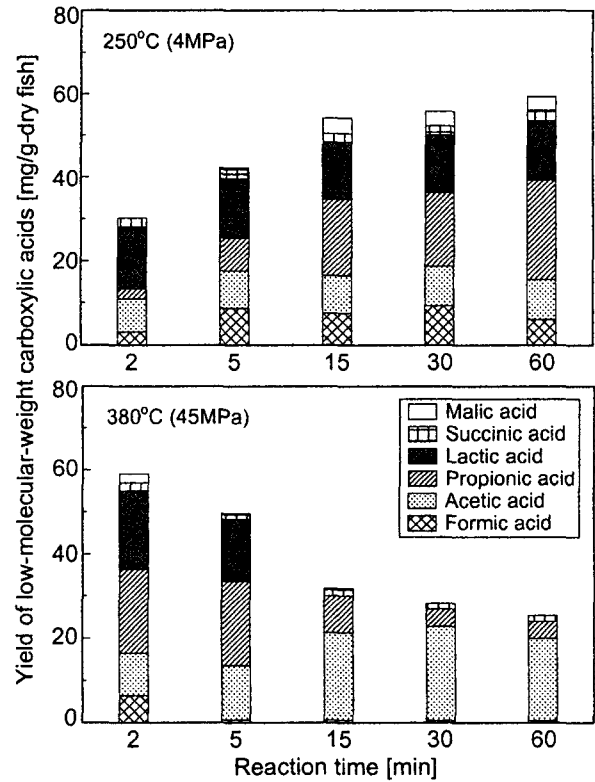


Figure 3. Yield of low-molecular-weight carboxylic acids against reaction time at 250°C (4 MPa) and 380°C (45 MPa).

반회분식 반응기를 이용한 반응공정의 개선

상술한 바와 같이, 회분식 반응조작 결과 발생하는 문제점을 개선하기 위하여 rapid sample injection system을 보유한 반회분식 반응기를 이용한 실험을 행하였다. 반회분식 반응기의 경우 반응의 중간생성물인 아미노산이 생성과 더불어 반응영역으로부터 제거되는 특징을 가지고 있다. 따라서 아미노산의 분해를 최대한 제어함과 동시에 결과적으로 높은 수율을 얻을 수 있다. 또한 본 조작은 가수분해 반응을 억제하는 평형 및 부생성물의 영향(11)을 최대한 배제할 수 있기 때문에 회분식 반응조작과 비교하여 높은 장점을 지닌다고 할 수 있다.

본 실험결과 300°C에서 아미노산의 최대수율을 얻을 수 있었으며, 그 결과를 회분식 반응기를 사용하여 얻었던 최대수율과 비교하여 Fig. 4에 나타내었다. 그림에 표현하는 바와 같이 회분식 반응조작과 비교하여 Asp, Ser과 같은 고분자량의 아미노산 수율이 상대적으로 높았으며 결과적으로 총 아미노산의 수율 (230 mg/g-dry fish)이 향상되는 결과를 가져왔다. 이 결과는 보다 저온의 반응조건에서 Asp 및 Ser을 얻을 수 있었던 Fig. 1의 회분식 실험결과와 유사성을 나타내고 있다. 다시 말해서 반회분식 반응조작에서는 아미노산의 생성과 동시에 연속적으로 제거되기 때문에 생성된 아미노산의 분해를 최대한 제어할 수가 있는 것으로 사료된다. 따라서 회분식 반응조작 결과 얻을 수 있었던 최적 반응온도와 비교하여 높은 수율의 아미노산을 얻기 위해서는 상대적으로

고온 및 단시간의 반응조작이 필요한 것으로 판단된다.

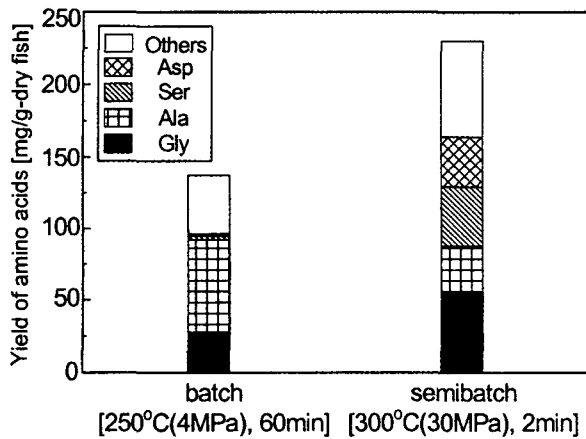


Figure 4. Comparison of maximum yield and composition of amino acids in batch and semi-batch experiments.

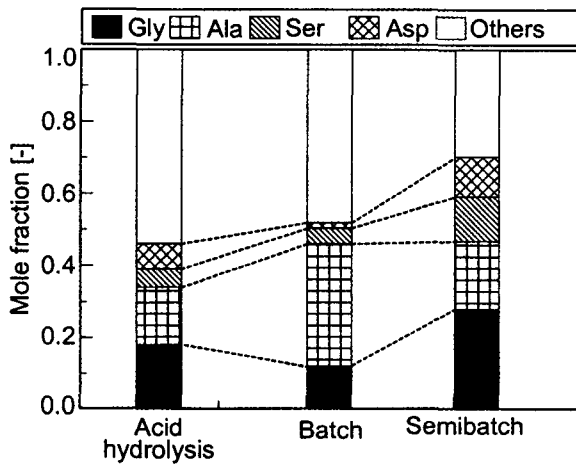


Figure 5. Comparison of amino acid composition obtained from reaction modes at 300°C (time = 2 min, p = 30 MPa, Note: the batch reactor was under saturated vapor pressure of 9 MPa).

각 반응조작과 관련된 아미노산 조성의 비교

300°C, 반응시간 2분의 각 반응조작에서 얻어진 아미노산 조성의 비교를 Fig. 5에 나타내었다. 반응결과 생성된 아미노산의 조성을 비교하기 위하여 실험샘플의 산 가수분해를 행하였으며 그 결과를 또한 그림에 나타내었다. 여기서 산 가수분해 결과 생성된 아미노산의 조성은 원래 실험샘플에 존재하는 아미노산의 조성으로 설명할 수 있다. 그림에 표현하는 바와 같이 회분식 및 반회분식 실험결과 얻어진 아미노산의 조성은 산 가수분해 결과 생성된 아미노산의 조성과 확연히 차가 남을 알 수 있다.

회분식 반응조작에서는 Gly, Ala과 같은 저분자량의 아미노산이 지배적이었으며 반회분식 반응조작에서는 Ser, Asp과 같은 고분자량의 아미노산의 생성이 촉진되었다. 이 결과는 앞에서 언급한 바와 같이 생성된 아미노산이 더욱이 분해하여 유기산이나 다른 휘발성 물질로 전환되기 이전에 반응영역으로부터 연속적으로 제거되어진다는 것을 입증하고 있다.

Gly은 회분식 반응조작에 비해 반회분식 반응조작에서 다소 증가하고 있으나 Ala의 경우 반대로 감소하고 있음을 보여주고 있다. 이는 회분식 반응기의 경우 설정온도 300°C에 도달하는데 약 7분 (온도의 전이효과)을 필요로 하며 이 상태가 반응에 영향을 미친 것으로 판단되며 또한 각 아미노산의 분해온도의 차이에 기인하는 것으로 사료된다.

상술한 바와 같이 아미노산은 생성 및 분해의 연속반응을 수반함과 동시에 온도의 전이효과에도 큰 영향을 받는 것으로 판단된다. 이와 관련해 저분자 및 고분자량의 특정 아미노산의 수율을 향상시키기 위해서는 각 아미노산의 분해온도 및 반응시간에 대한 보다 정확한 검토가 필요함을 시사한다.

요 약

고온고압수 반응에 의해 생선 내장으로부터 아미노산의 생성거동을 검토하기 위하여 회분식 및 반회분식 반응조작을 행하였으며 그 결과 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

250°C, 반응시간 60분에서 회분식 반응조작을 통해 얻었던 최적수율 (137 mg/g-dry fish)과 비교하여 상대적으로 고온인 300°C, 2분의 반회분식 조작결과 보다 높은 수율 (230 mg/g-dry fish)의 개선을 가져올 수 있었다. 또한 회분식 반응조작에서는 Ala, Gly과 같은 비교적 저분자량의 아미노산 생성이 지배적 이었으며 반회분식 조작에서는 Ser, Asp과 같은 고분자량의 아미노산 생성이 촉진되었다. 이와 관련하여 반응 생성물의 조성은 각 반응조작 (회분식 및 반회분식)에 의존하는 것을 알 수 있었다.

이상의 결과를 토대로 생선 폐기물로부터 아미노산의 생성을 위한 고온고압수 처리공정은 회분식 반응조작에서 얻을 수 있었던 최적온도보다 상대적으로 높은 온도 및 단시간 반응에서 조작되어야 한다는 것을 알 수 있었으며 특정 아미노산의 수율을 향상시키기 위해서는 보다 정확한 반응조작의 검토가 필요한 것으로 사료된다.

감 사

본 연구는 2003년도 BB21 Project 연구비 지원에 의해 수행되었습니다.

REFERENCES

- Savage, P. E. (1999), Organic chemical reactions in supercritical water, *Chem. Rev.* **99**, 603-621.
- Savage, P. E., S. Gopalan, T. I. Mizan, C. J. Martino, and E. E. Brock (1995), Reactions at supercritical conditions: applications and fundamentals, *AIChE J.* **41**, 1723-1778.
- Martino, J. C. and P. E. Savage (1999), Oxidation and thermolysis of methoxy-, nitro-, and hydroxy-substituted phenols in supercritical water, *Ind. Eng. Chem. Res.* **38**, 1784-1791.
- Aki, S. and M. A. Abraham (1999), Catalytic supercritical water oxidation of pyridine: comparison of catalysts, *Ind. Eng. Chem. Res.* **38**, 358-367.
- Anitescu, G., Z. Zang, and L. L. Tavlarides (1999), A kinetic study of methanol oxidation in supercritical water, *Ind. Eng.*

- Chem. Res.* **38**, 2231-2237.
6. Goto, M., T. Nada, S. Kawajiri, and A. Kodama (1997), Decomposition of municipal sludge by supercritical water oxidation, *J. Chem. Eng. Japan* **30**, 813-818.
 7. Shaw, R. W., T. B. Brill, A. A. Clifford, C. A. Eckert, and E. U. Franck (1991), Supercritical water: a medium for chemistry, *Chem. Eng. News* **12**, 26-38.
 8. Adschiri, T., O. Sato, K. Machida, N. Saito, and K. Arai (1997), Recovery of terephthalic acid by decomposition of PET in supercritical water, *Kagaku Kogaku Ronbunsho* **23**, 505-511.
 9. Sasaki, M., B. Kabyemela, R. Malaluan, S. Hirose, N. Takeda, T. Adschiri, and K. Arai (1998), Cellulose hydrolysis in subcritical and supercritical water, *J. Supercrit. Fluids* **13**, 261-268.
 10. Yoshida, H., M. Terashima, and Y. Takahashi (1999), Production of organic acids and amino acids from fish meat by subcritical water hydrolysis, *Kagaku Kougyou* **50**, 57-61.
 11. Kang, K., A. T. Quitain, H. Daimon, R. Noda, N. Goto, H. Hu, and K. Fujie (2001), Optimization of amino acids production from waste fish entrails by hydrolysis in sub- and supercritical water, *Can. J. Chem. Eng.* **79**, 65-70.
 12. Daimon, H., K. Kang, N. Sato, and K. Hujie (2001), Development of marine waste recycling technologies using sub- and supercritical water, *J. Chem. Eng. Japan* **34**, 1091-1096.
 13. Arai, K. and T. Adschiri (1999), Importance of phenol equilibria for understanding supercritical fluid environments, *Fluid Phase Equilibria* **158-160**, 673-684.
 14. Holgate, H. R., J. C. Meyer, and J. W. Tester (1995), Glucose hydrolysis and oxidation in supercritical water, *AIChE J.* **41**, 637-648.