

Corn-fiber의 희석된 황산 가수분해에 의한 L-arabinose의 생산

이 형 주 · 이 원 규 · † 유 연 우

아주대학교 분자과학기술학과

(접수 : 2007. 2. 2., 게재승인 : 2007. 6. 12.)

L-Arabinose Production from Diluted Sulfuric Acid Hydrolysis of Corn-fiber

Hyung Joo Lee, Won Kyu Lee, and Yeon Woo Ryu†

Department of Molecular Science and Technology, Ajou University, Suwon 443-749, Korea

(Received : 2007. 2. 2., Accepted : 2007. 6. 12.)

The demand of L-arabinose has been increased recently because of its advantages including clinical effect. L-arabinose can be produced from dilute acid hydrolysis of agricultural wastes. In this study, optimum conditions of L-arabinose production using dilute acid hydrolysis of agricultural wastes and nutshells were determined. Among the tested various agricultural wastes and nutshells, corn fiber was selected as the best raw material for the production of arabinose. The highest arabinose production was achieved an acid hydrolysis of corn fiber for 1 h at 130°C with 0.4% sulfuric acid. Above optimal conditions, it was obtained 20.1 g/L glucose, 10.1 g/L xylose, 7.8 g/L arabinose and 1.8 g/L galactose from 90 g/L of corn fiber. For the purification of arabinose, it was carried out to remove all of sugars except arabinose by the *Candida tropicalis* cultivation of acid hydrolyzate and an organic contaminants such as pigments by the active carbon treatment of fermentation broth. Moreover, experiments were carried out to eliminate an ions by exchange chromatography. Finally, we obtained 3.1 g of partially purified L-arabinose powder with about 40% yield by evaporation and vacuum drying.

Key Words : L-arabinose, corn fiber, *Candida tropicalis*, xylose

서 론

전 세계적으로 광합성에 의하여 생성되는 재생성의 섬유성 농산자원으로는 벃짚(rice straw), 밀짚 (wheat straw), 옥수수 속 (corn cobs), 옥수수 대 (corn stalks), 보리 짚 (barely straw), 사탕수수 대 (cane bagasse), 왕겨 등이 있다(1). 이러한 섬유성 농산자원의 주요 성분은 cellulose, hemicellulose 및 lignin 인데, 이중에서 hemicellulose가 약 20~40% 정도 함유되어 있다. 이러한 hemicellulose의 약 80% 이상은 xylan 및 xylan 유도체로서 arabinose가 α -1,3 결합으로 xylose 잔기 약 5개당 1개정도로 결합되어 있는 것이 특징이다. 즉 옥수수, 쌀, 보리 등의 hemicellulose에 존재하는 arabinoxylan의 구조는 주쇄가 β -1,4-D-xylan이고 xylose 2번 탄소 혹은 3번 탄소에 L-arabinose가 결합하고 있는데, 이중의 61%가 비환원성 말단에 존재한다(2).

L-Arabinose의 생산은 희석된 산을 이용하여 높은 온도에서 hemicellulose를 가수분해하여 xylose 및 arabinose 등을 얻는 방법이 일반적이다(3). 이러한 산 가수분해 방법은 간단하고 장치비용이 저렴하다는 장점이 있으나, 가장 큰 문제점은 산 가수분해에 의하여 미생물의 생육을 억제하는 물질이 생성된다는 문제점이 있다(4). 즉 산 가수분해에 의해 생성되는 산물로는 D-glucose, D-galactose, D-mannose, D-xylose, L-arabinose 등의 당류와 acetic acid, furfural, syringic acid가 있는데, 이들은 pH와 관련하여 미생물의 생육에 저해를 나타낸다. L-arabinose의 다른 생산 방법으로는 섬유성 농산자원인 사탕무 펄프 (beet pulp)나 옥수수 낱알 외피 (corn fiber) 등에 효소인 arabinofuranosidase를 처리하여 arabinose를 유리시키는 것이지만, 낮은 효소활성으로 인해 장시간의 처리가 요구된다는 단점이 있다(5).

자연계에 존재하는 일반적인 당들은 광학이성체가 보통 D-형이지만 arabinose는 L-형으로 대부분이 furanose 형태로 존재한다(6). 이러한 L-arabinose는 양질의 감미도를 갖는 pentose로서 감미도는 설탕의 50%이고, 미질 (quality of taste)이 설탕에 가까워 소량의 첨가로는 미질의 변화를 감지하기 어렵다. 특히 L-arabinose가 비만, 당뇨병과 고지혈

† Corresponding Author : Department of Molecular Science and Technology, Ajou University, Suwon 442-749, Korea

Tel : +82-31-219-2449, Fax : +82-31-216-8777

E-mail : ywryu@ajou.ac.kr

증 등의 성인병 예방에 효력이 있는 것으로 알려지면서, 이에 관한 관심이 급증하고 있다(7). 즉 L-arabinose는 소장 에서 sucrase를 저해하여 설탕이 분해 되지 않고 배출되어 과잉 설탕섭취로부터 초래하는 비만, 당뇨병의 부작용을 예방할 수 있다(8-10). 또한 L-arabinose를 정기적으로 섭취 한 쥐에서 혈중 중성지방의 농도가 현격히 낮아지는 결과가 보고 되면서 고지혈증 예방효과에도 기대되고 있다(11).

따라서 설탕을 감미제로 이용하는 여러 가지 식품군에 L-arabinose를 약 3~5% 첨가하면 종래의 감미특성을 변화 시키지 않고 건강에 좋은 기능성 제품들을 생산할 수 있을 것이다. 이에 본 연구에서는 섬유성 농산자원으로부터 고부가가치의 기능성 물질인 L-arabinose를 생산하기 위한 원료의 선택, 산 가수분해 조건 및 분리정제에 대한 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

사용균주 및 농산폐자원

본 연구에 사용한 균주는 *Candida tropicalis* ATCC 20336 을 이용하였다. 사용한 농산폐자원인 corn fiber (옥수수 낱 알 외피; 옥수수 전분 생산 공정의 부산물임)는 주식회사 보락 (BORAK, Co.)으로부터 공급받았고, corn stalk (옥수수 대), corn cobs (옥수수 속; 옥수수 낱알이 제거된 부분), rice straw (벼짚), rice hull (왕겨), rice bran (미강), coconut shell (코코넛 껍질), peanut shell (땅콩 껍질), walnut shell (호두 껍질), chestnut shell (밤 껍질), ginkkonut shell (은행 껍질), arcon shell (도토리 껍질) 등은 시장에서 구입하여 이용하였다.

배양배지 및 배양조건

접종용 균주의 배양은 20 g/L glucose, 10 g/L의 yeast extract 및 10 g/L의 peptone이 포함된 배지 50 mL을 flask 에 넣고 멸균한 후에 효모 균주를 접종하여 30°C의 Rotary shaker (Vision Co. Bucheon, Korea)에서 12시간 동안 200 rpm으로 진탕 배양하였다. 모든 배양을 위한 접종용 균주의 양은 5% (v/v)로 하였다. 산 가수분해 반응은 본 연구실에서 주문 제작한 3 L의 jar를 장착하고, 300 rpm으로 교반을 할 수 있는 고온·고압 반응기를 이용하였다. 산 가수분해 용액은 산 가수분해 반응 후에 Whatman paper로 여과하여 이용하였다. 이때 효모의 배양을 위하여 1 M ammonia 용액으로 배지의 pH를 5.5로 조절하였다.

농산폐자원의 선정 및 산 가수분해 최적 조건의 결정

섬유성 농산폐자원의 원료를 선정하기 위한 실험은 각각의 시료들을 막자사발에서 갈아 150 mesh로 거른 후에 dry oven에서 12시간동안 60°C의 온도조건에서 건조시켜 이용하였다. 산 가수분해는 각각의 원료 27 g를 0.4%의 H₂SO₄ 용액 300 mL에 넣은 후에 120°C에서 60분간 100 rpm으로 교반하면서 수행하였다. 또한 선정된 원료로부터 arabinose의 생산을 위한 산농도, 반응온도, 반응시간, 기질 농도에 대한 최적조건을 결정하였으며, 이때 사용한 corn

fiber는 원료구입시의 각피상태로 이용하였다.

산 가수분해 용액의 효모에 의한 당 소비경향 분석

Corn fiber 90g를 0.4% (w/v)의 황산용액 1 L에 넣고, 반응조에서 130°C로 1시간 반응시켜 얻은 산 가수분해 용액을 Whatman paper No. 1으로 거른 후 ammonia 용액으로 pH를 5.5로 조정하여 배지로 이용하였다. 사용한 효모는 실험실에서 보관 중인 균주로서 L-arabinose를 이용하지 않는 *C. tropicalis* ATCC 20336을 사용하였으며, 배양은 1.5 L jar fermenter에서 0.5 vvm의 통기량과 250 rpm의 교반으로 30°C에서 수행하였다.

L-Arabinose의 정제

배양액을 4,500 rpm으로 10분간 원심분리하여 효모를 제거하고 상등액을 다시 membrane filtration에 의하여 insoluble residues인 lignin과 cellulose을 제거하였다. 이후 용액을 다시 50 mesh의 activated carbon (Darco, USA)과 혼합하여 충분히 교반시킨 후에 filtration에 의하여 activated carbon을 제거시켰다. Activated carbon에 의한 탈색 정도는 spectrophotometer를 이용하여 optical density를 측정하였다 (12). Activated carbon을 통과시킨 여과액에 포함되어 있는 이온 성분을 제거하기 위하여 양이온 교환수지인 C100H (Samyang Diaion. Co., Seoul, Korea)와 음이온 교환수지인 WA30 (Samyang Diaion. Co., Seoul, Korea)을 이용하였다. 이온교환 수지의 전 처리는 column에 이온교환 수지를 충전 후 양이온 수지는 1 N HCl과 증류수로, 음이온 교환수지는 1 N NaOH와 증류수로 각각 washing한 후에 사용하였다(13). 이온교환 수지를 통과시킨 arabinose 용액은 EYERA Rotavapor A-3S (Tokyo Rikikai. co., Japan)를 이용하여 300 rpm과 45°C의 조건에서 arabinose의 농도가 약 100 g/L이 되도록 농축하여 4°C에 보관하면서 결정을 얻었다. 결정화된 분말에는 약 20%의 수분이 존재하므로 absolute ethanol 500 mL에 현탁한 후에 vacuum dry oven에서 24시간 건조시켜 분말을 얻었다.

분석 방법

당들의 분석은 산 가수분해시킨 용액에 동량의 0.15 M Ca(OH)₂ 첨가하여 잘 섞어 중화시킨 후에 원심분리하여 불순물을 제거시켰다. 이 용액을 다시 membrane filter로 여과하여 다시 동량의 증류수를 첨가한 후에 10,000 rpm으로 10분간 원심분리하여 얻은 상등액을 당 분석에 이용하였다. Glucose 등의 모든 당들은 REZEX RPM MONO SACCHARIDE column (300 × 7.80mm, phenomenex, CA, USA)을 이용하여 HPLC (Waters, USA)에서 RI Detector (Waters, USA)로 분석하였다. 이때, 용매는 물을 이용하였으며, 유속은 0.6 mL/min이고, column의 온도는 80°C이었다. HPLC로 정확한 glucose의 정량이 불가능한 경우 Glucose Analyzer (YSI, USA)를 사용하여 분석하였다.

Furfural의 분석은 Shodex[®] RSpak KC-811 (Showa-Denko, Japan) column을 이용하여 HPLC에서 45°C의 column 온도로 0.8% phosphoric acid 용액을 1.5 ml/min으로 흘려보내면서 UV detector (Waters, USA)로 228 nm에서 흡광도를 측

정하였다. 분석을 위한 모든 시료는 pore size가 0.2 μm인 HPLC 용 membrane filter로 여과한 후 분석에 사용하였다.

균체량의 측정은 배양액을 4,000 rpm으로 15분간 원심분리 하여 증류수로 1회 세척한 후에 spectrophotometer (Shimadzu, Japan)를 사용하여 620 nm에서 흡광도를 측정하였다. 건조 균체량은 흡광도와 건조 균체량의 표준곡선을 이용하여 환산 측정하였는데, 이 때 *C. tropicalis*의 흡광도 (OD) 1.0에 해당되는 건조 균체량은 0.426 g/L이었다.

이온 물질들의 분석은 Dionex사의 DX-120 ion chromatography를 사용하였다. 이때 양이온의 분석은 IonPac CS12A (Dionex) column, 음이온의 분석에는 IonPac AS11 (Dionex) column을 사용하였다. 용매는 양이온인 경우에는 0.07% methane sulfonic acid, 음이온인 경우에는 0.04% NaOH solution을 이용하였으며, flow rate는 모두 1 mL/min으로 하였다.

결과 및 고찰

농산폐자원의 선정

여러 가지 농산폐자원들을 0.4% (v/v)의 황산용액으로 120°C에서 1시간동안 산 가수분해시킨 후에 생성되는 당들을 분석하였다. 실험결과(Table 1)에서 주로 glucose, xylose, arabinose, galactose와 mannose가 생성되었으며, 생성된 각 당들의 함량은 농산폐자원들에 따라 매우 다양하였다.

Table 1. Sugar composition of acid hydrolysates in various agricultural wastes

Substrate	Carbohydrates in hydrolysate(%) (w/w, sugar/substrate)				
	Glucose	Xylose	Arabinose	Galactose	Mannose
Corn stalk	5.4	4.7	0.7	0.4	8.6
Corn cob	3.8	18.2	4.8	1.5	1.1
Corn fiber	22.8	12.1	8.0	1.9	0.0
Rice bran	10.1	2.1	3.6	0.8	1.9
Rice staw	11.6	7.3	1.9	1.1	1.1
Rice hulls	17.1	6.4	1.9	0.7	0.0
Gingkonut shell	7.8	3.6	0.5	0.7	0.8
Peanut shell	1.5	1.0	3.3	0.9	0.5
Coconut shell	0.2	15.8	0.5	0.3	0.0
Acorn shell	0.3	9.0	3.1	1.6	0.0
Walnut shell	0.7	5.6	1.1	1.7	0.1
Chestnut shell	1.2	5.0	2.0	2.5	0.0

즉 glucose의 생성은 corn fiber에서 22.8%로 가장 높았으며, 그 다음으로 rice hull (17.1%), rice straw (11.6%) 및 rice bran (10.1%)의 순서였다. 반면에 xylose는 corn cob에서 18.2%로 가장 많이 생성되었으며, 그 다음으로 coconut shell과 corn fiber에서 각각 15.8%와 12.1%가 생성되었다. L-Arabinose인 경우에는 corn fiber에서 8.0%로 가장 높았으며, 그 다음으로 corn cob, rice bran, peanut shell 및 acorn shell에서 3% 이상이 생성되었다. Galactose는 chestnut shell에서 2.5%로 가장 많이 생성되었으며, mannose는 corn stalk에서 가장 많은 8.6%가 생성되었다. 따라서 위의 산

가수분해 조건에서 거의 대부분의 hemicellulose는 가수분해 되어 xylose와 arabinose로 생성되고, 반면에 cellulose는 부분적으로 가수분해 되어 glucose가 생성되는 것으로 사료되었다. 이때에 L-arabinose의 수율이 xylose에 비하여 대부분의 시료에서 현저히 낮은 것은 원료인 hemicellulose에서 arabinose가 차지하는 비율이 낮기 때문이다(3). 일반적으로 xylose는 non-wood fiber에서 10~20%의 비율을 보이지만 arabinose의 경우에는 0.2~4.0%의 함량을 보이고 있다(2). 특히 사용한 시료 중에서 corn fiber로부터는 실험에 사용된 기질들 중에서 가장 많은 당이 추출되었으며, 특히 arabinose의 함량이 8.0%로 arabinose 생산을 위한 최적의 기질임을 확인할 수 있었다. 한편 견과류들에서는 추출되는 총 당의 함량이 벼 또는 옥수수의 폐자원보다 낮게 추출되었다. 특히 peanut shell로부터 당의 추출율은 매우 낮았으며, coconut shell, acorn shell, walnut shell, chestnut shell로부터는 생성되는 당들 중에서 xylose의 생성량이 가장 높았고, 그 다음으로 arabinose와 glucose이었다. 특히, coconut shell의 경우에는 생성되는 총 당의 94.7%가 xylose이었다. 따라서 주어진 산 가수분해 조건에서 L-arabinose의 생성이 가장 높은 corn fiber를 L-arabinose의 생산을 위한 원료로 선정하였다.

Table 2. Effect of sulfuric acid concentration on the sugar composition of corn fiber hydrolysate for 1h at 110°C

H ₂ SO ₄ (%,v/v)	Carbohydrates in hydrolytes(%) (w/w, sugar/substrate)			
	Xylose	Glucose	Arabinose	Others
0.05	1.1	0.4	0.8	N.D
0.2	2.3	1.8	3.3	N.D
0.4	3.4	2.7	4.8	N.D
0.6	3.7	5.1	3.7	N.D

(N.D, No detected)

산 가수분해 최적조건의 결정

Corn fiber를 다양한 황산농도에서 110°C로 60분간 산 가수분해 시킨 결과를 Table 2에 나타내었다. 실험결과에서 xylose와 glucose의 생성은 산 농도의 증가에 따라 증가하였으나, arabinose의 생성은 0.4%의 황산 농도에서 4.8%로 가장 높았다. 그러나 황산 농도의 증가에 따라 가수분해된 총 당에 대한 xylose의 농도비는 약 30% 정도를 유지하였으나 glucose의 경우에는 산농도 증가에 따라 계속적으로 증가하였다. 반면에 생성된 총 당에 대한 L-arabinose의 농도비는 산농도 0.2%~0.4%에서 가장 높은 값을 나타내었다. 따라서 산농도의 증가에 따라서 hemicellulose 뿐만 아니라 cellulose가 분해되어 xylose나 arabinose보다는 glucose의 농도가 증가되므로 arabinose의 생산 수율과 순도를 높이기 위해서는 가능한 낮은 산 농도에서 반응을 시키는 것이 유리할 것으로 판단되었다. 또한 furfural 등의 다른 당들은 거의 생성되지 않았으므로 산 농도는 arabinose의 생성이 가장 우수한 0.4%로 결정하였다.

Arabinose의 생성을 위한 최적의 원료농도를 결정하기 위하여 각기 다른 농도의 원료를 0.4% 황산 용액으로 110°C에서 60분간 처리하였다. 실험결과(Table 3)에서 기질의 농도 증가에 따라 생성되는 당들의 농도는 증가할지라도

단위 기질에 대하여 각각의 당들이 생성되는 양은 오히려 감소하였다. 따라서 산 가수분해 수율을 증가시키기 위해서는 사용하는 기질의 농도가 낮을수록 증가하겠지만, 반응기내에 원하는 당의 농도를 높이기 위해서는 높은 기질 농도를 사용하는 것이 더 유리할 수 있을 것으로 사료되었다.

Table 3. Effect of substrate concentrations on the sugar composition of corn fiber hydrolysate with 0.4% sulfuric acid at 130°C for 1 hr

Substrate (g/L)	Carbohydrates in hydrolysates (%) (w/w, sugar/substrate)			
	Xylose	Glucose	Arabinose	Others
25	2.4	3.4	4.9	N.D
35	1.8	2.8	4.2	N.D
45	1.0	1.1	3.5	N.D

(N.D, No detected)

Table 4. Effect of temperature on the sugar composition of corn fiber hydrolysate with 0.4% sulfuric acid for 1h reaction

Temperature (°C)	Carbohydrates in hydrolysates (%) (w/w, sugar/substrate)			
	Xylose	Glucose	Arabinose	Galactose
100	2.7	2.7	4.5	0
110	5.2	8.9	5.4	0
120	10.4	21.0	6.4	1.0
130	12.1	26.9	7.8	1.8

반응온도에 따라 corn fiber로부터 arabinose의 생성에 대한 영향을 검토하기 위하여 0.4%의 황산을 각각의 반응온도에서 60분간 산 가수분해시켰다. 실험결과(Table 4)에서 xylose, glucose 및 arabinose의 생성이 모두 반응온도 증가에 따라 증가하였다. 특히 arabinose가 130°C에서 7.8%의 가장 높은 농도로 생성되었다. 일반적으로 cellulose나 hemicellulose를 높은 온도와 산농도 조건에서 가수분해할 경우에 미생물에 대하여 독성이 있는 화합물들이 생성될 수 있는데, 이 중 가장 흔하게 발견되는 화합물이 furfural과 5-hydroxymethylfurfural이며, 그 밖에도 2-hydroxymethylfural, organic acid, terpenes 및 phenolic compound가 존재할 수 있다(4). 가수분해 산물 중에 이들 화합물의 양이나 형태는 가수분해 조건과 사용되는 biomass에 따라 다르다. 또한 이들 화합물의 독성은 가수분해 산물을 기질로 이용하는 미생물에 따라 다르게 작용할 수 있다. 독성물질의 저해 효과를 감소시키기 위해 사용되는 방법은 환원제의 첨가, 기질의 열처리, steam 증류, 고농도 균체의 사용, 활성탄 처리, 이온 교환 수지에 의한 전처리 등이 포함된다(4). 그러므로 본 연구에서는 처리과정을 단순화시키기 위하여 독성물질의 생성이 적다고 알려진 낮은 온도와 낮은 산농도의 조건에서 산 가수분해를 진행하였으며, 그 결과 130°C 이하에서는 furfural과 같은 독성물질이 검출되지 않았기 때문에 Table에 나타내지는 않았다. 따라서 최적의 산 가수분해 반응 온도를 130°C로 결정하였다.

황산의 농도와 반응온도를 각각 0.4%와 130°C로 고정시키고 반응시간에 따라 corn fiber로부터 arabinose가 생성되는 것을 분석하였다. 실험결과(Table 5)에서 xylose와 galactose의 경우는 반응 30분 이후부터는 약간씩 증가하였다. 반면에 glucose와 arabinose는 60분 반응시간까지는 증

가하였으나 그 이후의 시간에서는 오히려 약간씩 감소하였다. 따라서 최적의 산 가수분해 시간은 60분으로 결정하였다.

Table 5. Effect of reaction time on the sugar composition of corn fiber hydrolysate with 0.4% sulfuric acid at 130°C

Time (min)*	Carbohydrates in hydrolysate (%) (w/w, sugar/substrate)			
	Xylose	Glucose	Arabinose	Galactose
0	3.9	6.3	4.2	0
30	11.1	12.1	5.4	0
60	12.1	26.9	7.8	1.8
90	12.7	25.6	7.7	2.0
120	12.8	26.6	7.6	2.0

*: Time was counted after reaching 130°C

효모 배양을 통한 산 가수분해 산물에서 당들의 제거

Corn fiber의 산 가수분해 용액에는 arabinose 이외에 xylose 및 glucose와 미량의 많은 당들이 존재하므로 arabinose만을 분리하기가 매우 어렵다. 따라서 arabinose만을 이용하지 못하는 미생물을 이용하여 산 가수분해 산물에 존재하는 당들을 모두 이용하도록 하면, 배양액에는 arabinose만이 존재하게 된다. 이를 위하여 산 가수분해 용액을 배지로 하여 arabinose를 이용하지 못하는 *C. tropicalis* ATCC 20336을 배양하였다. 산 가수분해 용액은 corn fiber 90 g를 0.4% (w/v) 황산용액 1 L에 넣고, 130°C로 1시간 반응시킨 후 Whatman paper No. 1으로 고형물을 제거하고, ammonia 용액으로 pH를 5.5로 조정하였다. 이때 산 가수분해 산물에는 대략 glucose 20.1 g/L, xylose 10.1 g/L, arabinose 7.8 g/L와 1.8 g/L의 galactose가 존재하였으며, 배양은 1.5 L jar fermenter에서 0.5 vvm의 통기량과 250 rpm의 교반으로 30°C에서 수행하였다.

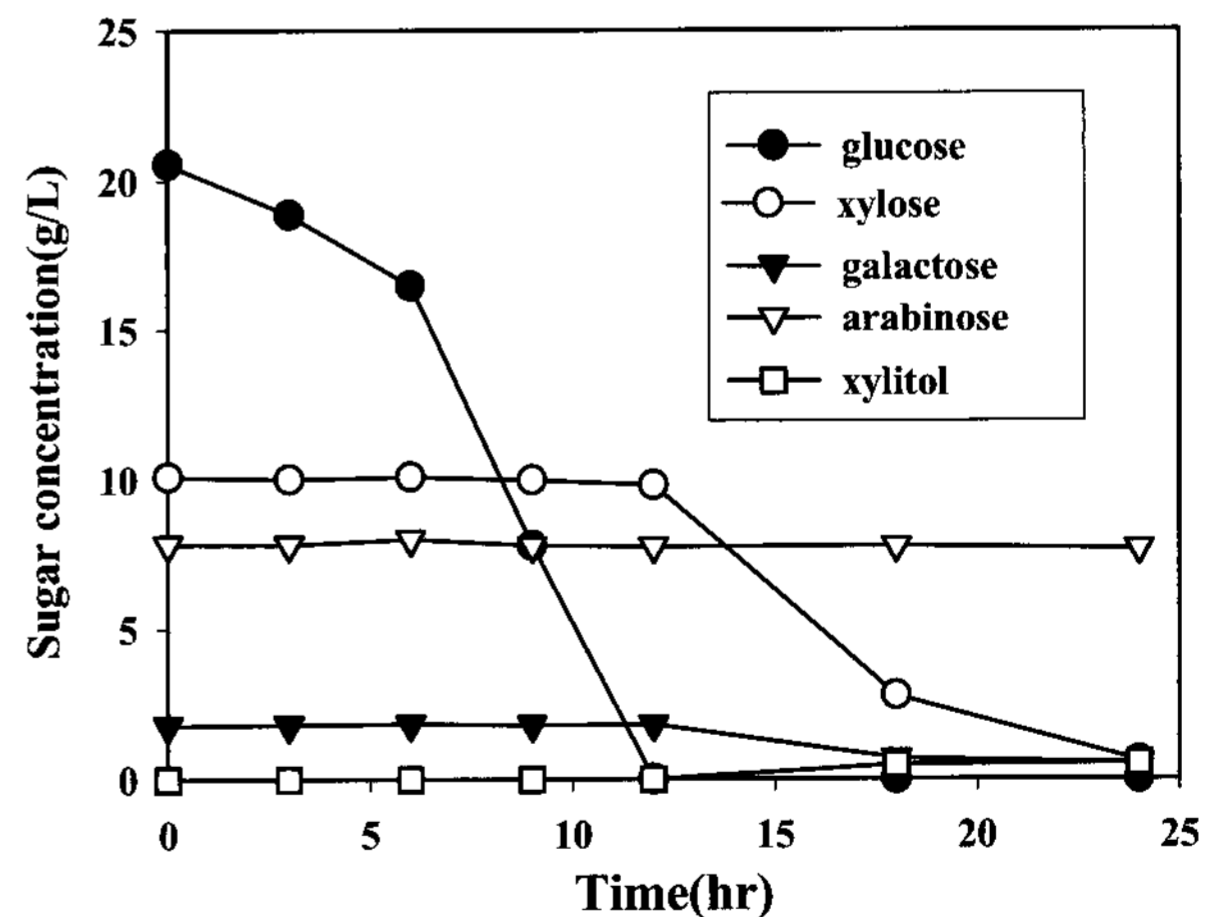


Figure 1. Profiles of sugars concentration during the culture of *C. tropicalis* ATCC 20336 in dilute-acid hydrolysate of corn-fiber.

실험결과(Fig. 1)에서 *C. tropicalis*는 먼저 배지 내에 존재하는 glucose를 소모한 후에 xylose와 galactose를 이용하였다. 이때 매우 낮은 xylose 농도로 인하여 발효에 의해 생성되는 xylitol의 생성도 매우 낮았다. 따라서 산 가수분해 용액에 *C. tropicalis*를 접종하여 24시간 배양한 후에 배양

액에는 대략 7.6 g/L의 arabinose, 0.6 g/L의 xylose, 0.5 g/L의 galactose 및 0.5 g/L의 xylitol이 존재하였다. 이러한 배양액의 HPLC 당 분석 diagram을 Fig. 2에 나타내었다.

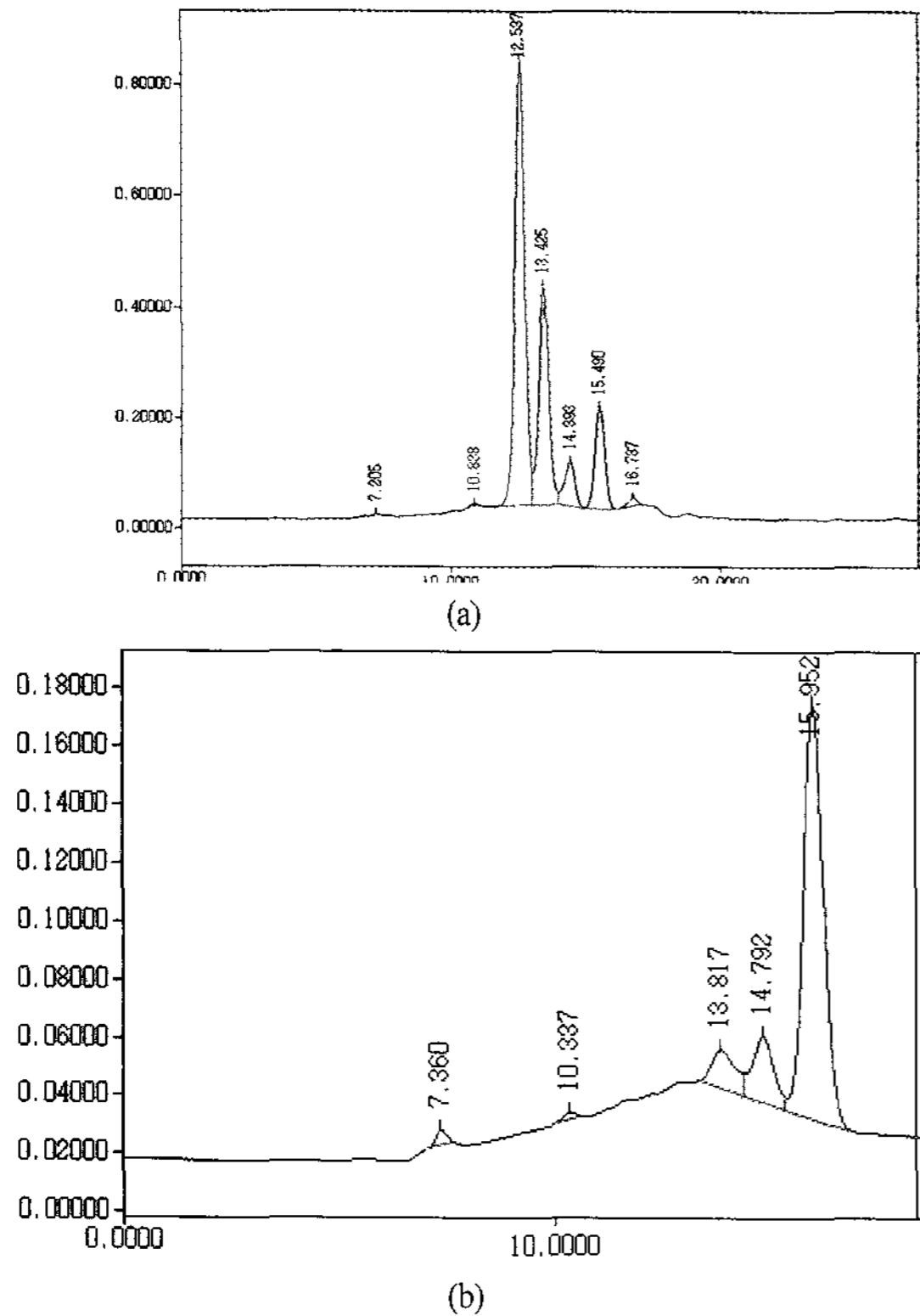


Figure 2. HPLC chromatograms of hydrolysate (a) and fermentation broth (b).

L-Arabinose의 정제

효모 배양을 통하여 L-arabinose 이외의 당들을 제거한 후에 L-arabinose의 정제를 수행하였다. 먼저 배양액을 원심분리 하여 효모를 제거시킨 상등액을 membrane filtration에 의하여 insoluble residues인 lignin과 cellulose를 제거하였다. 이후 여과액 1 L에 50 mesh의 activated carbon 100 g를 첨가하여 교반시킨 후에 activated carbon을 glass filter paper로 제거하였다. 여액의 성분을 분석한 결과 arabinose의 경우 약 90% 이상의 수율을 얻을 수 있는 반면에 색소물질들은 거의 모두 제거되어 540 nm에서의 optical density가 1.36에서 0.004로 감소하였다. 이는 배양액에 존재하는 여러 가지 organic contaminants인 색소물질들이 제거되었기 때문으로 이는 Sarah 등(14)의 organic compounds가 activated carbon의 처리에 의하여 제거된다는 결과와 유사하였다.

Table 6. Ion concentrations of fermentation both

Cation	ppm	Anion	ppm
Sodium	N.A	Chloride	59
Ammonium	2080	Sulfate	455
Potassium	119	Nitrate	8639
Magnesium	41	Phosphate	478

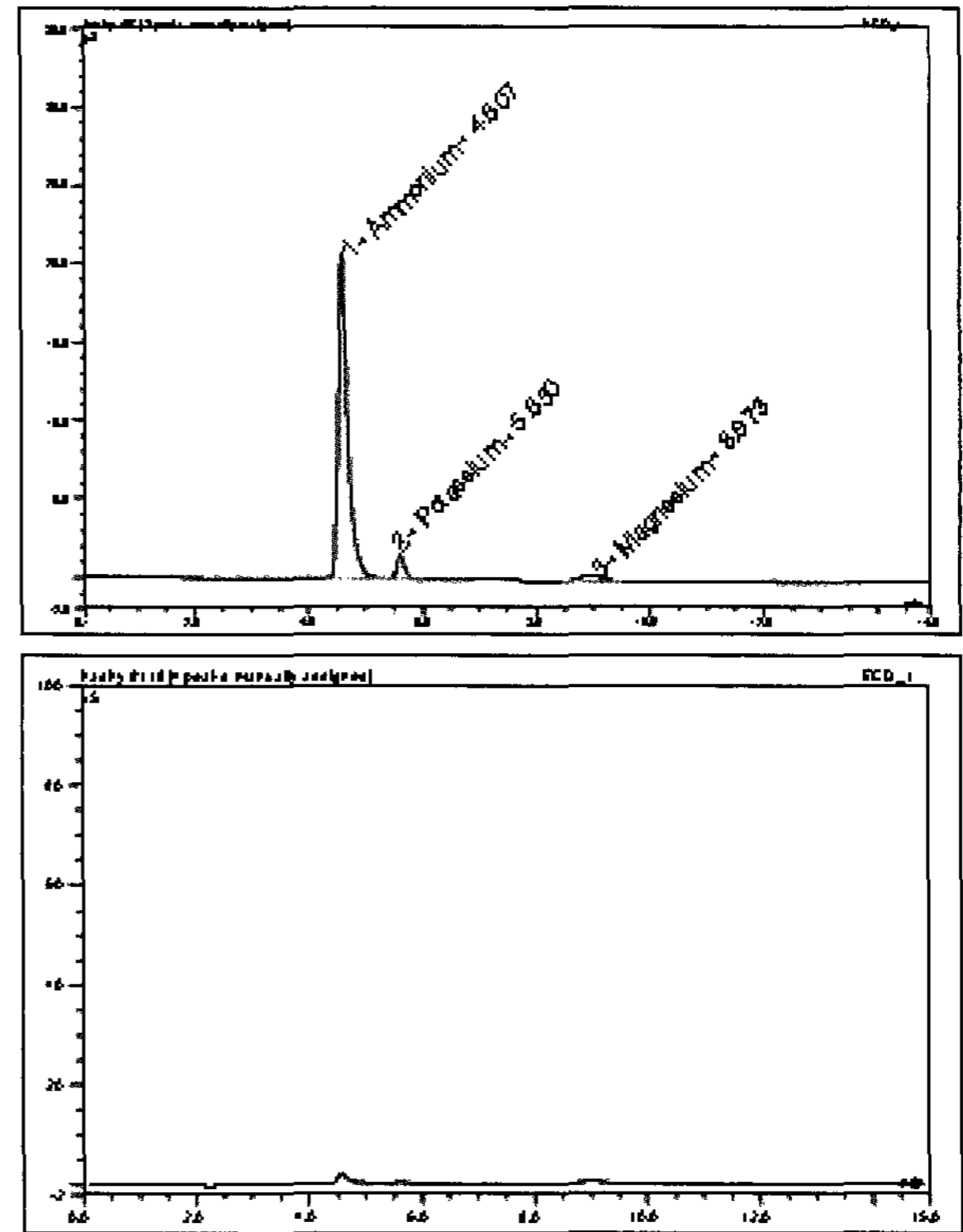


Figure 3. Cation chromatogram of before (above) and after (below) cation exchange chromatography on C100H column.

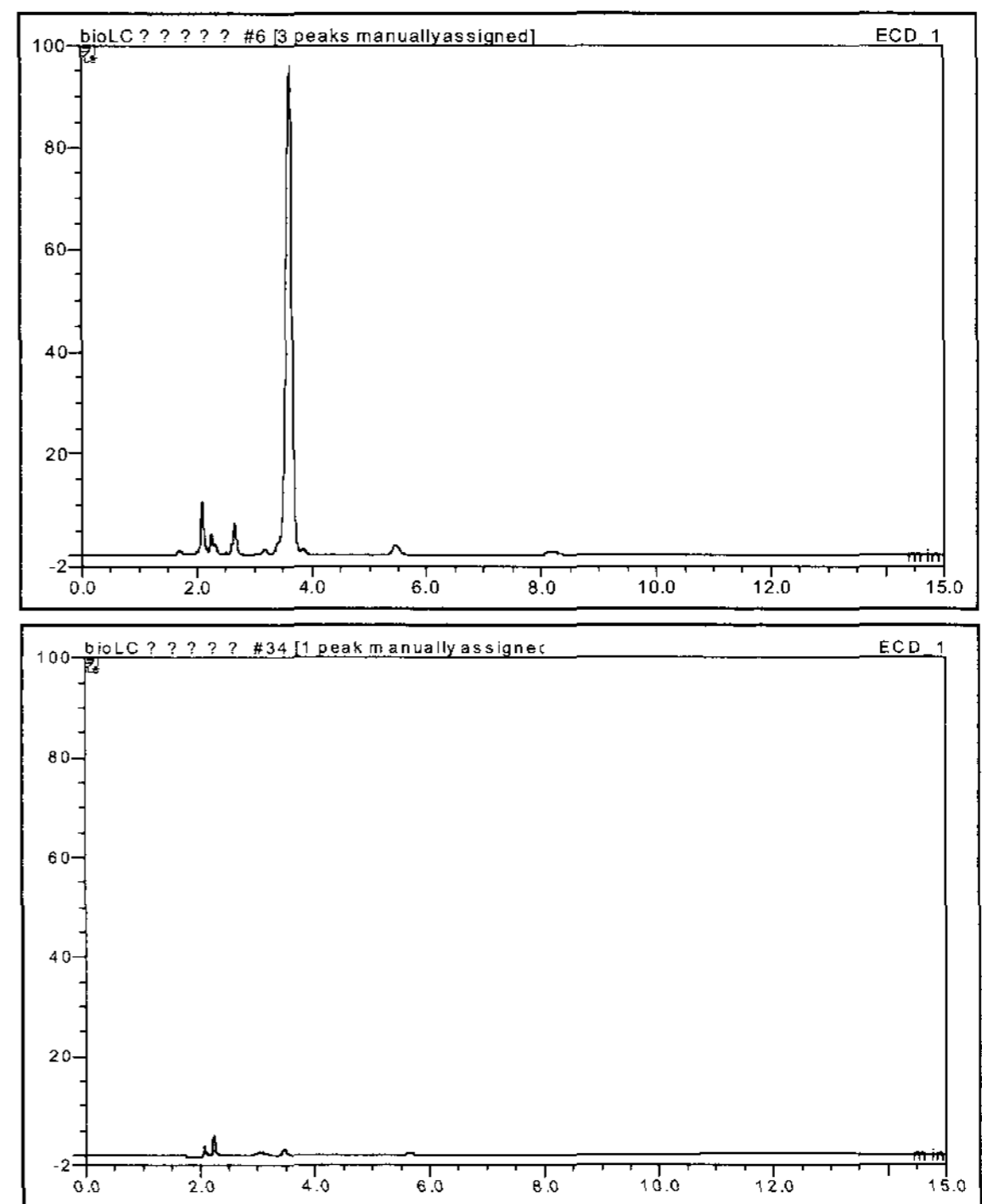


Figure 4. Anion chromatogram of before (above) and after (below) anion exchange chromatography on WA30 column.

Activated carbon을 통과시킨 여과액의 이온물질을 분석한 결과 Table 6에서와 같이 양이온과 음이온의 물질들이 존재하기 때문에 결정화의 순도를 높이기 위해서 이온성 물질들의 제거가 필요하다. 이를 위하여 양이온 교환수지인 C100H (Samyang Diaion. Co., Seoul, Korea)와 음이온 교환수지인 WA30 (Samyang Diaion. Co., Seoul, Korea)를 사용하여 이온성 물질들을 제거하였다.

환수지인 WA30 (Samyang Diaion. Co., Seoul, Korea)을 이용하여 이온성분들을 제거시켰다. 산 가수분해 용액에 녹아 있는 양이온성분인 ammonium과 potassium 그리고 magnesium은 C100H column을 통과시킨 후의 여액에는 대부분의 양이온 성분이 제거됨을 확인할 수 있었다(Fig. 3). 또한 WA30 column을 통과한 여액에서도 sulfate와 nitrate 그리고 phosphate 등의 음이온이 거의 대부분이 제거됨을 알 수 있다(Fig. 4).

이온교환 수지를 통과시킨 용액을 EYERA Rotavapor A-3S (Tokyo Rikikai. co., Japan)를 이용하여 300 rpm과 45°C에서 arabinose의 농도가 약 100 g/L이 되도록 농축하여 4°C에서 보관하여서 결정을 얻었다. 결정화된 분말에는 아직 약 20%의 수분이 존재하므로 이를 효과적으로 제거하기 위하여 분말을 absolute ethanol 500 mL에 용해시킨 후에 진공 펌프로 수분과 ethanol을 동시에 제거하였다. 그 후 vacuum oven에서 24시간 건조시켜 L-arabinose를 분말을 얻었다. L-Arabinose의 최종 분리정제 수율은 약 40%로서 7.8 g/L의 산 가수분해 용액으로부터 3.1 g의 crude 분말을 얻었다.

요 약

농산 폐자원 및 견과류 껍질의 산 가수분해를 통하여 L-arabinose를 생산하기 위한 최적조건의 결정에 대한 연구를 수행하였다. 다양한 원료들을 분말로 제조하여 희석된 황산으로 가수분해 시킨 결과 corn fiber에서 arabinose가 가장 많이 생성되어, 이를 원료로 선정하였다. Corn fiber로부터 arabinose를 생성하기 위한 산 가수분해 반응의 최적조건은 0.4%의 황산으로 130°C에서 60분간 처리하는 것이며, arabinose의 생성 수율은 기질의 농도가 낮을수록 증가하였으나 생성농도는 기질의 농도가 높을수록 증가하였다. 최종적으로 90 g/L의 corn fiber를 최적조건에서 산 가수분해 시킨 결과 20.1 g/L의 glucose, 10.1 g/L의 xylose, 7.8 g/L의 arabinose 및 1.8 g/L의 galactose가 생성되었다. 산 가수분해 용액을 암모니아수로 pH를 5.5로 조정하고 *C. tropicalis*를 접종하여 배양한 결과 7.6 g/L의 arabinose, 0.6 g/L의 xylose, 0.5 g/L의 xylitol 및 0.5 g/L의 galactose만이 존재하였다. 이는 효모의 배양에 의하여 당 혼합물로부터 L-arabinose의 비율을 증가시킬 수 있다는 것을 보여주었다. 막 여과에 의하여 고형물을 제거시킨 배양액에 activate carbon을 처리하여 organic contaminants와 색소를 제거하고 양이온과 음이온 교환 수지를 통과시켜 이온물질들을 제거시킨 후에 농축시켜 3.1 g의 L-arabinose의 분말을 얻었다.

감 사

본 연구는 2004년도 에너지관리공단의 에너지·자원기술 개발 사업에 의하여 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- Sadder, J. N. (1993), Bioconversion of forest and agricultural plant residues In *Biotechnology in Ariculture*, C.A. International, Wallingfords, Vol. 9, 231-290.
- Saulnier, L., C. Marot, E. Chanliaud, and J. F. Thibault (1995), Cell wall polysaccharide interactions in maize bran, *Carbohydr. Polym.* 26, 279-287.
- Bungay, H. (1992), Production opportunities for biomass refining, *Enz. Microb. Technol.* 14, 501-507.
- Schneider, H. (1989), Conversion of pentose to ethanol by yeasts and fungi, *CRC. Crit. Rev. Biotechnol.* 9, 651-657.
- Kusakabe, I., T. Yasui, and T. Kobayashi (1975), Some properties of arabinan degrading enzymes produced by microorganism and enzymatic preparation of arabinose from sugar beet pulp, *Nippon Nogeikagaku Kaishi* 49, 295-305.
- Colquhoun, I. J., M. C. Ralet, J. F. Thibault, C. B. Faulds, and G. Williamson (1994), Structure identification of feruloylated oligosaccharides from sugar-beet pulp by NMR spectroscopy, *Carbohydr. Res.* 263, 243-256.
- Hizukuri, S. (1999), Nutritional and physiological functions and uses of L-arabinose, *J. Appl. Glycosci.* 46, 159-165.
- Seri, K., N. Matsuo, K. Kawakubo, C. Xue, and S. Inoue (1996), L-Arabinose selectively inhibits intestinal sucrase in an uncompetitive manner and suppress glycemic response after sucrose ingestion in animals, *Metabolism* 45, 1368-1374.
- Sanai, K., K. Seri, and S. Inoue (1997), Inhibition of sucrose digestion and absorption by L-arabinose in rats, *J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.* 50, 133-137.
- Inoue, S., K. Sanai, and K. Seri (2000), Effect of L-arabinose on blood glucose level after ingestion of sucrose-containing food in human, *J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.* 53, 243-247.
- Osaki, S., T. Kimura, T. Sugimoto, S. Hizukuri, and N. Iritani (2001), L-Arabinose feeding prevents increases due to dietary sucrose in lipogenic enzymes and triacylglycerol levels in rats, *J. Nutr.* 131, 796-799.
- Gurgel, P. V., I. M. Mancilha, R. P. Pecanha, and J. F. M. Siqueira (1995), Xylitol recovery from fermented sugarcane bagasse hydrolyzate, *Bioresource Technology* 52, 219-223.
- Dominguez, J. M., N. Cao, C. S. Gong, and G. T. Tsao (1997), Dilute acid hemicellulose hydrolysates from corn cobs for xylitol production by yeast, *Bioresource Technology* 61, 85-90.
- Priddy, S. A. and T. R. Hanley (2003), Effect of agitation on removal of acetic acid from pretreatment hydrolysate by activated carbon, *Appl. Biochem. Biotechnol.* 353, 105-108.