



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2011-0065708
(43) 공개일자 2011년06월16일

(51) Int. Cl.

C07C 29/94 (2006.01) C07C 31/20 (2006.01)

C12P 7/04 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2009-0122328

(22) 출원일자 2009년12월10일

심사청구일자 2009년12월10일

(71) 출원인

한국과학기술연구원

서울 성북구 하월곡동 39-1

(72) 발명자

엄영순

서울특별시 성북구 하월곡동 39-1 한국과학기술연구원 과학자아파트 B동 301호

상병인

서울특별시 성북구 돈암1동 1-3번지

김경덕

경기도 의정부시 호원동 쌍용아파트 101동 303호

(74) 대리인

김 순 영, 김영철

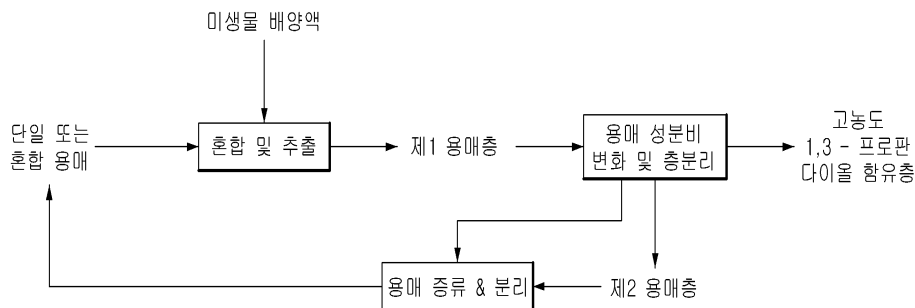
전체 청구항 수 : 총 22 항

(54) 1,3-프로판다이올의 분리 방법

(57) 요약

본 발명은 1,3-프로판다이올이 포함된 미생물 배양액에 단일 또는 혼합 용매를 첨가하여 1,3-프로판다이올이 포함된 제 1 용매층을 분리시키는 단계; 상기 제 1 용매층의 용매 성분비를 변화시켜 층분리를 유도하는 단계; 및 상기 층분리된 제 1 용매층 중 1,3-프로판다이올 함유층을 제 2 용매층과 분리하는 단계;를 포함하는 1,3-프로판다이올의 분리 방법에 관한 것이다. 본 발명에 따르면, 1,3-프로판다이올을 포함하는 미생물 배양액으로부터 우수한 효율로 1,3-프로판다이올을 분리할 수 있다.

대표도 - 도1



특허청구의 범위

청구항 1

1,3-프로판다이올이 포함된 미생물 배양액에 단일 또는 혼합 용매를 첨가하여 1,3-프로판다이올이 포함된 제 1 용매층을 분리시키는 단계;

상기 제 1 용매층의 용매 성분비를 변화시켜 층분리를 유도하는 단계; 및

상기 층분리된 제 1 용매층 중 1,3-프로판다이올 함유층을 제 2 용매층과 분리하는 단계;를 포함하는 1,3-프로판다이올의 분리 방법.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 단일 용매는 메틸-에틸-케톤(methyl-ethyl-ketone), 에틸 아세테이트, 디-에틸 에테르 및 MTBE(methyl tert-butyl ether)로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상인 1,3-프로판다이올의 분리 방법.

청구항 3

제 2 항에 있어서,

상기 단일 용매는 메틸-에틸-케톤인 1,3-프로판다이올의 분리 방법.

청구항 4

제 1 항에 있어서,

상기 혼합 용매는 메틸-에틸-케톤(methyl-ethyl-ketone), 에틸 아세테이트, 디-에틸 에테르 및 MTBE(methyl tert-butyl ether)로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 용매와 소수성 용매의 혼합 용매인 1,3-프로판다이올의 분리 방법.

청구항 5

제 4 항에 있어서,

상기 소수성 용매는 헥산, 헵탄, 데칸, 도데칸, 에테르, 파라핀 용액 및 올레일 알코올(oleyl alcohol)로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상인 1,3-프로판다이올의 분리 방법.

청구항 6

제 4 항에 있어서,

상기 혼합 용매 중 메틸-에틸-케톤(methyl-ethyl-ketone), 에틸 아세테이트, 디-에틸 에테르 및 MTBE(methyl tert-butyl ether)로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 용매와 소수성 용매의 부피비는 1:0 초과 1:9 이하인 1,3-프로판다이올의 분리 방법.

청구항 7

제 1 항에 있어서,

상기 단일 또는 혼합 용매와 1,3-프로판다이올이 포함된 미생물 배양액의 부피비는 40:1 내지 1: 40인 1,3-프로판다이올의 분리 방법.

청구항 8

제 7 항에 있어서,

상기 단일 또는 혼합 용매와 1,3-프로판다이올이 포함된 미생물 배양액의 부피비는 10:1 내지 1:2인 1,3-프로판다이올의 분리 방법.

청구항 9

제 1 항에 있어서,
 상기 분리된 제 1 용매층의 용매 성분비는 소수성 용매를 첨가하여 변화되는 1,3-프로판다이올의 분리 방법.

청구항 10

제 9 항에 있어서,
 상기 소수성 용매는 부피비율이 제 1 용매층을 기준으로 10~90%(v/ v)인 1,3-프로판다이올의 분리 방법.

청구항 11

제 1 항에 있어서,
 상기 제 1 용매층의 용매 성분비는 용매층에 포함된 용매를 감압 증발시켜 변화되는 1,3-프로판다이올의 분리 방법.

청구항 12

제 11 항에 있어서,
 상기 감압 증발된 용매는 증류로 분리하여 재사용되는 1,3-프로판다이올의 분리 방법.

청구항 13

제 1 항에 있어서,
 상기 분리 방법은 분리된 1,3-프로판다이올 함유층 중의 물 및 용매를 제거하는 단계를 추가로 포함하는 1,3-프로판다이올의 분리 방법.

청구항 14

제 13 항에 있어서,
 상기 제거된 용매는 증류로 분리하여 재사용되는 1,3-프로판다이올의 분리 방법.

청구항 15

제 1 항에 있어서,
 상기 제 2 용매층의 용매는 증류로 분리하여 재사용되는 1,3-프로판다이올의 분리 방법.

청구항 16

제 1 항에 있어서,
 상기 배양액은 1,3-프로판다이올, 1,2-프로판다이올, 부탄다이올 (butanediol), 글리세롤 및 포도당으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 혼합물을 포함하는 1,3-프로판다이올의 분리 방법.

청구항 17

제 1 항에 있어서,
 상기 배양액은 클렙시에라 뉴모니아(*Klebsiella pneumoniae*), 클렙시에라 옥시토카(*Klebsiella oxytoca*), 엔테로박터 아글로메란스(*Enterobacter agglomerans*), 클로스트리디움 부티리쿰(*Clostridium butyricum*), 시트로박터 프레운디이(*Citrobacter freundii*) 및 재조합 대장균을 포함한 미생물로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 1,3-프로판다이올 생산 미생물로부터 획득되는 1,3-프로판다이올의 분리 방법.

청구항 18

제 1 항에 있어서,

상기 배양액은 100 내지 500g/L의 농도로 농축된 배양액인 것을 특징으로 하는 1,3-프로판다이올의 분리 방법.

청구항 19

제 1 항에 있어서,

상기 분리 방법은 미생물 배양액에 산 또는 염기를 첨가하여 pH를 조절하는 단계를 더 포함하는 1,3-프로판다이올의 분리 방법.

청구항 20

제 1 항에 있어서

상기 분리 방법은 성분비가 변화된 상기 제 1 용매층에 물을 첨가하여 층분리를 유도하는 단계를 더 포함하는 1,3-프로판다이올의 분리 방법.

청구항 21

제 20 항에 있어서 상기 제 1 용매층과 물의 부피비는 100:1 내지 1:10인 1,3-프로판다이올의 분리 방법.

청구항 22

제 1 항 내지 제 21 항 중 어느 한 항에 따라 분리된 1,3-프로판다이올.

명세서

발명의 상세한 설명

기술분야

[0001] 본 발명은 미생물 배양액에 포함된 산업적으로 다양하게 활용될 수 있는 1,3-프로판다이올을 분리하는 방법에 관한 것이다. 보다 자세하게는 1,3-프로판다이올을 포함하는 미생물 배양액으로부터 단일 또는 혼합 용매를 첨가하여 1,3-프로판다이올이 포함된 제 1 용매층을 분리시키고, 분리된 상기 제 1 용매층의 용매 성분비를 변화시켜 층분리를 유도하여, 고농도 1,3프로판다이올을 분리하는 방법에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 최근 화석 연료의 과다 사용에 따른 자원 고갈 및 환경오염에 대한 우려가 증가함에 따라, 선진국을 중심으로 환경오염 및 온난화 문제를 해결하기 위해 화석 연료의 사용에 대한 규제 강화 및 바이오디젤과 같은 신재생에너지의 보급을 확산하려는 정책이 입안되고 있으며, 폐기물 재사용 및 기존 화학공정을 탈피한 친환경적 공정 개발에 박차를 가하고 있다.

[0003] 이와 같은 시도 중, 바이오디젤을 생산하는 공정에서 부산물로 고농도의 글리세롤이 바이오디젤 생산량 대비 10% 정도의 양으로 발생하게 되어 일반 폐기물로 처리하기에는 다량이며 많은 처리 비용이 요구되어 왔다.

[0004] 이를 극복하기 위하여, 바이오디젤 생산 공정의 경제성을 악화시키므로 바이오 디젤 폐부산물인 글리세롤의 새로운 용도로의 개발이 미국 및 유럽을 중심으로 이루어지고 있다.

[0005] 바이오 디젤 생산 과정의 부산물로 얻어지는 글리세롤의 공급량 확대 및 가격의 하락에 따라 각종 정밀화학제품의 원료물질로서 사용될 수 있는 가능성이 높아지고 있는데, 글리세롤의 미생물 전환을 통한 1,3-프로판다이올 생산을 그 실현 가능성과 잠재적인 시장 규모 측면에서 많은 관심을 끌고 있는 분야이다. 또한, 글리세롤에서 뿐만 아니라 포도당 등 당류로부터도 1,3-프로판다이올을 생산할 수 있다.

[0006] 1,3-프로판다이올은 최근 상용화되어 용도가 확대되고 있는 폴리트리메틸렌 테레프탈레이트(polytrimethylene terephthalate)의 단량체로 이용될 수 있으며, 현재 셸(Shell), 또는 듀폰(Dupont)사에 의해 생산되고 있는 폴리트리메틸렌 테레프탈레이트는 2010년에 그 생산량이 100만톤을 상회하는 대형 시장을 형성할 것으로 예측된다. 이에 대응하기 위하여, 폴리트리메틸렌 테레프탈레이트 단량체인 1,3-프로판다이올의 친환경적 생산 기술 및 가격 경쟁력 확보가 필요한 실정이며, 이를 위해서는 미생물 배양액에 포함되어 있는 1,3-프로판다이올

을 다른 부산물로부터 효과적으로 분리하고 정제하는 기술이 필요하다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

[0007] 본 발명의 일실시예에 따른 목적은 산업적으로 다양하게 활용될 수 있는 1,3-프로판다이올을 고농도 및 우수한 효율로 분리하는 방법을 제공하는 것이다.

과제 해결수단

[0008] 상기 목적을 달성하기 위한 본 발명에 따른 일실시예는 1,3-프로판다이올이 포함된 미생물 배양액에 단일 또는 혼합 용매를 첨가하여 1,3-프로판다이올이 포함된 제 1 용매층을 분리시키는 단계; 상기 제 1 용매층의 용매 성분비를 변화시켜 증분리를 유도하는 단계; 및 상기 증분리된 제 1 용매층 중 1,3-프로판다이올 함유층을 제 2 용매층과 분리하는 단계;를 포함하는 1,3-프로판다이올의 분리 방법에 관한 것이다.

[0009] 또한, 본 발명에 따른 일실시예는 위 분리 방법을 통해 분리된 1,3-프로판다이올에 관한 것이다.

효 과

[0010] 본 발명에 따르면, 1,3-프로판다이올을 산업적으로 적용가능한 간단한 방법으로 고농도로 효율적으로 분리할 수 있는 바, 최근 유용한 화합물로 각광을 받고 있는 1,3-프로판다이올의 생산 및 분리 기술 개발에 크게 기여할 수 있다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

[0011] 1,3-프로판다이올을 미생물 배양액으로부터 분리하는 종래기술로서는, 투과증발(pervaporation), 증류(distillation), 또는 흡착(adsorption) 등의 방법이 있다. 그러나, 위 종래기술은 투과증발 중 사용되는 분리막에서 막힘 현상이 나타나거나, 투과증발(pervaporation) 또는 흡착(adsorption)시 1,3-프로판다이올의 제거 속도가 매우 낮거나, 또는 1,3-프로판다이올에 대한 선택성이 낮다는 등의 단점이 있다.

[0012] 1,3-프로판다이올을 미생물 배양액으로부터 분리하는 다른 방법으로는 1,3-프로판다이올 분리를 위해 추출을 이용하는 경우 에너지를 절약할 수 있으나, 수용액으로부터 1,3-프로판다이올을 선택적으로 추출하는 용매의 선택이 중요하다.

[0013] 1,3-프로판다이올의 분리와 관련하여, 한국특허출원공개 제2006-0020864호는 1,3-프로판다이올, 1,2-프로판다이올, 글리세롤 및 포도당을 포함하는 혼합물을 감압증발하여 농축시키고, 농축액을 에틸아세테이트, 메틸에틸케톤 및 이들의 혼합용매로 처리한 후, 저압크로마토그래피를 이용하여 1,3-프로판다이올 및 1,2-프로판다이올을 분리하는 방법을 개시하고 있다.

[0014] 그러나, 위 분리 방법은 용매로 이동된 1,3-프로판다이올을 다시 실리카가 충전된 컬럼에 메탄올 용매를 이용하여 저압 크로마토그래피를 접촉시킨 후 처리한다는 점에서, 용매를 이용하여 미생물 배양액으로부터 1,3-프로판다이올이 포함된 용매층을 분리시키고, 용매 성분에 따른 1,3-프로판다이올 용해도 차이를 이용하여 고농도 1,3-프로판다이올 분리하는 본 발명과 차이가 있다. 또한, 위와 같은 방법으로 분리하는 경우에도 글리세롤이 부분적으로만 제거(제2006-0020864호의 명세서 중 실시예 1 내지 3 참조)되어, 1,3-프로판다이올과 함께 잔존하는 글리세롤이 불순물로서 영향을 미칠 수 있다는 점에서 본 발명의 분리 방법에 비해 효율성이 떨어진다고 할 수 있다. 특히, 한국특허출원공개 제2006-0020864에서는 저압크로마토그래피에 로딩하는 용매층 내 분리 가능한 1,3-프로판다이올 농도가 40 g/L 이하로 제한되므로, 단위시간당 분리 가능한 양이 낮고 최종 농도가 낮아서 효율성이 떨어진다.

[0015] 이에, 본 발명은 1,3-프로판다이올이 포함된 미생물 배양액에 단일 또는 혼합 용매를 첨가하여 1,3-프로판다이올이 포함된 제 1 용매층을 분리시키는 단계; 상기 제 1 용매층의 용매 성분비를 변화시켜 증분리를 유도하는 단계; 및 상기 증분리된 제 1 용매층 중 1,3-프로판다이올 함유층을 제 2 용매층과 분리하는 단계;를 포함하는 1,3-프로판다이올의 분리 방법을 제공한다.

[0016] 우선, 본 발명은 1,3-프로판다이올이 포함된 미생물 배양액에 단일 또는 혼합 용매를 첨가하여 1,3-프로판다이올이 포함된 제 1 용매층을 분리시키는 단계를 포함한다.

- [0017] 하나의 실시예에서, 상기 미생물 배양액에 첨가되는 단일 용매는 미생물 배양액으로부터 1,3-프로판다이올을 추출하기에 적합한 용매라면 특별히 제한되지 않으나, 예를 들어 메틸-에틸-케톤(methyl-ethyl-ketone), 에틸 아세테이트, 디-에틸 에테르 및 MTBE(methyl tert-butyl ether)로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상일 수 있으며, 구체적으로 메틸-에틸-케톤 단일용매일 수 있다. 하기 실시예 예시된 바와 같이, 미생물 배양액에 잔류하는 1,3-프로판다이올 농도를 가스 크로마토그래피로 분석하면, 첨가된 용매에 의해 추출을 수행하기 전과 후 농도 차이를 통해 용매에 의해 추출된 1,3-프로판다이올의 양을 계산할 수 있으며, 상기 미생물 배양액에 메틸-에틸-케톤을 첨가하는 경우 1,3-프로판다이올의 용매 내 추출 농도가 높고, 추출율이 35% 이상임을 확인할 수 있다.
- [0018] 또 다른 실시예에서, 상기 혼합 용매는 메틸-에틸-케톤(methyl-ethyl-ketone), 에틸 아세테이트, 디-에틸 에테르 및 MTBE(methyl tert-butyl ether)로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상(용매 A)과 소수성 용매(용매 B)의 혼합 용매일 수 있다. 본 출원의 발명자들은 하기 실시예 6에 예시되어 있는 바와 같이, 위 용매들을 혼합하여 사용하는 경우에도 소수성 용매가 메틸-에틸-케톤(methyl-ethyl-ketone), 에틸 아세테이트, 디-에틸 에테르 및 MTBE(methyl tert-butyl ether)로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 추출 성능에 영향을 주지 않음을 확인하였는 바, 혼합 용매를 통해 1,3-프로판다이올을 추출하여도 무방하다.
- [0019] 상기 소수성 용매는 특별히 제한되지 않으나, 예를 들어 헥산, 헵탄, 데칸, 도데칸, 에테르, 파라핀 용액 및 올레일 알코올(oleyl alcohol)로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상일 수 있다.
- [0020] 이 때, 상기 혼합 용매 중 메틸-에틸-케톤(methyl-ethyl-ketone), 에틸 아세테이트, 디-에틸 에테르 및 MTBE(methyl tert-butyl ether)로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 용매와 소수성 용매의 부피비는 1,3-프로판다이올의 추출율에 영향을 주지 않을 정도라면 특별히 제한되지 않으나, 예를 들어 1:0 초과 내지 1:9 이하일 수 있다.
- [0021] 하나의 실시예에서, 상기 단일 또는 혼합 용매와 1,3-프로판다이올이 포함된 미생물 배양액의 부피비는 40:1 내지 1: 40 일 수 있으며, 바람직하게 10:1 ~1:2일 수 있다. 본 출원의 발명자들은 용매의 부피비가 증가함에 따라 1,3-프로판다이올의 추출량이 증가함을 확인하였다.
- [0022] 본 발명은 상기 제 1 용매층의 용매 성분비를 변화시켜 층분리를 유도하는 단계를 포함한다.
- [0023] 하나의 실시예에서, 상기 제 1 용매층의 용매 성분비는 소수성 용매를 첨가하여 변화될 수 있다.
- [0024] 상기 소수성 용매는 위에서 언급한 바와 같이 헥산, 헵탄, 데칸, 도데칸, 에테르, 파라핀 용액 및 올레일 알코올(oleyl alcohol)로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상일 수 있으며, 최종 소수성 용매의 부피 비율은 용매층을 기준으로 10~90%(v/v)일 수 있으며, 바람직하게는 30~80%(v/v) 일 수 있다.
- [0025] 또 다른 실시예에서, 상기 제 1 용매층의 용매 성분비는 용매층에 포함된 용매를 감압 증발시켜 변화될 수 있다.
- [0026] 이 때, 제 1 용매층 분리에 사용된 용매가 단일 용매인 경우, 소수성 용매를 첨가하여 용매 성분비를 변화시켜 1,3-프로판다이올층을 분리할 수 있으며, 경우에 따라서 소수성 용매를 첨가하기 전에 분리된 제 1 용매층에 포함된 단일 용매를 증발시켜 1,3-프로판다이올 농도를 증가시킴으로써, 층분리를 보다 용이하게 할 수 있다.
- [0027] 또한, 제 1 용매층 분리에 사용된 용매가 메틸-에틸-케톤(methyl-ethyl-ketone), 에틸 아세테이트, 디-에틸 에테르 및 MTBE(methyl tert-butyl ether)로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상(용매 A)과 소수성 용매(용매 B)의 혼합 용매인 경우, 분리된 제 1 용매층에 소수성 용매인 용매 B를 추가로 첨가하여, 용매 성분비를 변화시켜 1,3-프로판다이올층을 분리할 수 있으며, 경우에 따라서 분리된 제 1 용매층을 가열하여 제 1 용매층에 포함된 혼합 용매 중 소수성 용매의 부피 비율을 증가시키거나, 1,3-프로판다이올 농도를 증가시킴으로써, 층분리를 보다 용이하게 할 수도 있다.
- [0028] 이 때, 소수성 용매인 용매 B(예: 헵탄)의 끓는점이 용매 A(예를 들어, 메틸에틸케톤) 보다 높은 경우, 분리된 제 1 용매층을 가열하면 끓는점이 상대적으로 더 높은 소수성 용매의 부피비율이 용매층 내에서 더 높아 지므로 가열과 동시에 용매성분비가 변화되고, 이에 따른 층분리를 유도할 수 있다.
- [0029] 또한, 소수성 용매인 용매 B(예: 헥산)의 끓는점이 용매 A(예를 들어, 메틸에틸케톤) 보다 낮은 경우, 제 1 용매층에 소수성 용매를 추가로 넣어 층분리를 유도하거나, 제 1 용매층을 가열하여 용매층에 포함된 혼합

용매 중 1,3-프로판다이올 농도를 증가시킨 후 소수성 용매를 추가하여 층분리를 유도할 수 있다.

- [0030] 이후, 층분리된 제 1 용매층 중 1,3-프로판다이올 함유층을 제 2 용매층과 분리하는 단계를 거친다. 상기 1,3-프로판다이올 함유층은 층분리가 이루어진 후 하층에서 회수될 수 있다.
- [0031] 경우에 따라서, 상기 분리 방법은 1,3-프로판다이올 함유층을 제 2 용매층과 분리한 이후, 분리된 1,3-프로판다이올 함유층을 증발시켜 1,3-프로판다이올 함유층 중에 포함된 물 및 용매를 제거하는 단계를 추가로 포함할 수 있으며, 상기 물 및 용매는 가열 증발을 통해 이루어질 수 있다. 이를 통해 고농도의 순수한 1,3-프로판다이올을 얻을 수 있다.
- [0032] 이와 관련하여, 미국등록특허 제 7,572,376호는 농축된 배양액에 헥산올(hexanol) 또는 트리부틸포스페이트(tributyl phosphate: TBP) 용매를 사용하여 1,3-프로판다이올을 추출하고, 용매층에 탄소수가 6~10인 알칸 용매 또는 물을 이용한 역추출(back extraction)을 수행하여 1,3-프로판다이올을 분리하는 방법을 제시하고 있다. 그러나, 사용된 용매가 본 발명에서 사용된 단일 또는 혼합 용매와 상이할 뿐 아니라, 역추출 후 최종 1,3-프로판다이올 농도가 낮아서 다량의 용매 또는 물을 증발시켜야 순수 1,3-프로판다이올을 분리할 수 있다 (실시예 1 내지 표 1 참조). 또한, 최종 분리된 1,3-프로판다이올 포함 수용액 층에는 소량의 헥산올 또는 트리부틸포스페이트가 녹아있기 때문에, 이를 제거하기 위해 헥산올 첨가하여 층분리를 하였는데, 이는 헥산올 또는 트리부틸포스페이트의 끓는점이 물보다 높기 때문에 수용액 증발시 제거가 되지 않고 불순물로 남을 수 있다 (실시예 8 참조).
- [0033] 이와 달리, 본 발명은 1,3-프로판다이올이 포함된 용매층 분리에 사용된 단일 또는 혼합 용매의 끓는점이 물보다 낮아서, 미국등록특허 제 7,572,376호에서와 같이 별도의 층분리 과정을 거칠 필요 없이, 가열 증발시키는 과정을 통해 고농도 1,3-프로판다이올을 효율적으로 얻을 수 있다.
- [0034] 경우에 따라서, 위에서 제거된 용매 또는 층분리된 용매층 중 1,3-프로판다이올 함유층 외의 제 2 용매층 용매는 증류로 분리하여 다시 용매로 재사용 가능하다.
- [0035] 하나의 실시예에서, 상기 배양액은 1,3-프로판다이올 생산 미생물로부터 획득될 수 있는 것이라면 특별히 제한되지 않으나, 예를 들어 클렙시에라 뉴모나에(*Klebsiella pneumoniae*), 클렙시에라 옥시토카(*Klebsiella oxytoca*), 엔테로박터 아글로메란스(*Enterobacter agglomerans*), 클로스트리디움 부티리쿰(*Clostridium butyricum*), 시트로박터 프레운디이(*Citrobacter freundii*) 및 재조합 대장균을 포함한 미생물로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상으로부터 획득될 수 있다.
- [0036] 상기 미생물은 글리세롤 또는 포도당과 같은 탄소원을 섭취한 후 에탄올, 아세트산, 부탄다이올, 1,3-프로판다이올 등의 용매를 대사 산물로 생산하므로, 상기 배양액은 1,3-프로판다이올, 1,2-프로판다이올, 부탄다이올 (butanediol), 글리세롤 및 포도당으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 혼합물을 포함할 수 있다.
- [0037] 상기 배양액은 1,3-프로판다이올을 20 내지 100g/L의 농도, 바람직하게 20 내지 80g/L의 농도로 함유할 수 있으며, 이는 미생물은 배양액 내의 1,3-프로판다이올 농도가 높으면 활성에 저해를 받기 때문이다. 경우에 따라서, 상기 배양액은 농축 배양액일 수 있으며, 이 때 상기 배양액은 100 g/L 이상, 구체적으로 100 내지 500g/L의 농도로 농축된 것일 수 있다.
- [0038] 경우에 따라서, 상기 분리 방법은 미생물 배양액에 산 또는 염기를 첨가하여 pH를 조절하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [0039] 본 출원의 발명자들은 하기 실시예에 구체적으로 기재한 바와 같이 산을 첨가하여 배양액을 pH 2 내지 3으로 조절하는 경우, 추출율이 증가할 수 있음을 확인하였다. 상기 산은 목적하는 pH를 조절하기에 적합한 것이라면 특별히 제한되지 않으나, 예를 들어 미생물이 글리세롤을 소비하고 부산물로 생산하는 아세트산, 부티르산, 젖산 및 숙신산으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상을 첨가할 수 있다. 또한, 수산화나트륨(NaOH)와 같은 염기를 첨가하여 pH 10~11로 조절하는 경우에도 추출율이 증가함을 확인하였다.
- [0040] 이는 첨가한 산과 염기에 의해 물과 1,3-프로판다이올 간 결합에 영향을 주어서 결과적으로 1,3-프로판다이올 추출율에 영향을 주었을 것으로 생각된다.
- [0041] 경우에 따라서, 상기 분리 방법은 성분비가 변화된 상기 제 1 용매층에 물을 첨가하여 층분리를 유도하는 단계를 더 포함할 수 있다. 하기 실시예 7에 나타난 바와 같이, 예를 들어 메틸에틸케톤과 헥산 또는 메틸에틸케톤과 헵탄이 혼합된 용매를 사용하면, 소량의 물로도 층분리가 되며, 이로 인해 고농도로 1,3-프로판다이올을 추출할 수 있음을 확인하였다. 더욱이, 메틸에틸케톤과 헵탄이 혼합된 용매를 사용하는 경우, 가열하여

끓는점이 낮은 메틸에틸케톤을 증발시키면, 일정한 정도로 부피가 감소하였을 때, 실내온도로 식힌 결과 층분리가 일어나, 우수한 효율로 고농도의 1,3-프로판다이올을 회수할 수 있음을 확인하였다.

[0042] 이 때, 상기 제 1 용매층과 물의 부피비는 층분리를 유도할 수 있을 정도라면 특별히 제한되지 않으나, 예를 들어 100:1 내지 1:10, 바람직하게는 50:1 내지 1:5일 수 있다.

[0043] 이하 본 발명을 하기 실시예를 통하여 더욱 상세히 설명한다. 하기 실시예는 본 발명을 설명하기 위한 것이고 본 발명의 범위를 한정하기 위한 것이 아니다.

[0044] [실시예 1] 효과적인 추출 용매 선정

[0045] 50 mL 펀넬(funnel)에 50 g/L으로 희석된 1,3-프로판다이올을 15ml 넣고 추출 용매인 메틸-에틸-케톤 (MEK), 에틸아세테이트(Ethyl acetate), 디-에틸 에테르(di-ethyl ether), MTBE(methyl tert-butyl ether), 올레일 알코올(oleyl alcohol)을 15ml씩 넣고 교반기(shaker)를 이용하여 280 rpm에서 30분 간격으로 흔들어 준 후 추출하였다. 추출전 후 수용액 내 1,3-프로판다이올 농도는 FID가 장착된 가스크로마토그래피 (Agilent technology 6890N Network GC system)를 이용하여 정량하였으며, 컬럼은 HP-INNOWAX (30 m x 250 μ m x 0.25 μ m, Agilent technology)를 사용하였다. 각 용매로 추출된 1,3-프로판다이올 농도와 추출율은 표 1에 나타내었다.

[0046] [표 1] 추출용매에 따른 1,3-프로판다이올 추출농도 및 추출율

	메틸에틸케 톤	에틸아세테 이트	디-에틸에 테르	MTBE	올레일알코 올
용매내 농 도 (g/L)	18.7	8.2	18.8	4.3	4.1
추출율 (%)	36.9	16.4%	35.3%	9.0%	7.7%

[0048] [실시예 2] pH 영향 평가

[0049] 이번에는 1,3-프로판다이올 추출에 있어서 pH영향을 확인하기 위하여 수산화나트륨 (NaOH)과 미생물 배양에서 부산물로 생산하는 아세트산 (acetic acid)를 넣어 각각 pH 10.8 및 pH 2.2로 조절 하였다. 50 mL 펀넬(funnel)에 50 g/L으로 희석된 1,3-프로판다이올을 15ml 넣고 pH를 조절한 후, 추출 용매인 메틸-에틸-케톤 (MEK) 15ml를 넣고 280 rpm 교반기를 이용하여 30 분 간 교반한 후, 1,3-프로판다이올 추출량을 조사하였다. 표 2에서 나타나는 바와 같이 pH조절을 하지 않은 샘플보다 pH 2.2 또는 pH 10.8으로 조절한 샘플에서는 추출율이 높았다. 반면, 아세트산과 같은 염인 소듐 아세테이트를 첨가한 경우는 추출율이 오히려 감소하였으며, 이 결과로부터 아세테이트 이온이 아닌 산에 의한 낮은 pH가 추출에 영향을 주는 것을 확인할 수 있다.

[0050] [표 2] pH에 따른 메틸에틸케톤 용매의 추출 양상

	pH 6.8 (pH 조절 하지 않은 샘플)	pH 2.2 (아세트산 첨가)	pH 10.8 (수산화나트륨 첨가)	pH 7.0 (소듐아세테 이트 첨가)
추출된 농도 (g/L)	18.7	21.6	24.8	9.2
추출율 (%)	36.9	45.1	45.2	18

[0052] [실시예 3] 글리세롤 및 포도당 추출 여부

[0053] 1,3-프로판다이올 추출에 있어 글리세롤이 용매로 추출되는지를 알아보기 위해 글리세롤 46 g/L 및 1,3-프로판다이올 30 g/L이 포함된 수용액 15 mL에 같은 양(15mL)의 메틸에틸케톤을 넣고 교반하여 추출하였다.

[0054] 그 결과, 수용액 층의 글리세롤은 추출 후 46 g/L로 농도변화가 없으므로 용매층으로 추출되지 않음을 확인하였으며, 1,3-프로판다이올 추출율에도 영향을 주지 않음을 확인하였다. 같은 방법으로, 포도당도 메틸에틸케톤으로 추출되지 않음을 확인하였다.

[0055] [실시예 4] 추출용매의 부피에 따른 추출 양상

[0056] 1,3-프로판다이올 40 g/L을 각각의 편벨에 10 mL 넣고 메틸에틸케톤을 5, 10, 20,40 mL 넣은 후 교반기를 이용하여 280 rpm에 30 분 교반한 후 추출 양상을 관찰한 결과, 표 3에서 나타나는 바와 같이 메틸에틸케톤 부피비율이 높을수록 추출률이 증가하였다.

[0057] [표 3]추출용매 부피에 따른 추출 양상

	부피비율 (메틸에틸케톤: 수용액)			
	1:2	1:1	2:1	4:1
추출율 (%)	33.4	35.8	39.2	41.2

[0058]

[0059] [실시예 5] 1,3-프로판다이올 농도에 따른 추출 양상

[0060] 1,3-프로판다이올 20, 40, 60, 100 g/L을 포함하는 수용액 15 mL 각각의 편벨에 넣고 메틸에틸케톤을 15 mL 넣은 후 교반기를 이용하여 280 rpm에 30 분 교반한 후 추출 양상을 관찰하였으며, 그 결과는 표 4에 나타내었다. 초기 수용액 층 내 1,3-프로판다이올 농도가 클수록 용매로 추출된 농도도 증가하였고, 추출율과 분배계수는 40 g/L일 경우 가장 높았다. 본 실시예의 결과에서 보면, 수용액층 1,3-프로판다이올 농도가 높아도 메틸에틸케톤 내 농도 27 g/L 까지만 추출되는 경향을 알 수 있다.

[0061] [표 4]1,3-프로판다이올 농도가 추출에 미치는 영향

	1,3-프로판다이올 농도 (g/L)			
	20	40	60	100
추출율 (%)	34.1	38.8	37.1	25.0
용매 내 농도 (g/L)	6.9	16.1	23.4	27.0
분배계수 (용매층 농도/수용액층 농도)	0.52	0.64	0.59	0.34

[0062]

[0063] [실시예 6] 혼합 용매 이용 추출

[0064] 수용액 1,3-프로판다이올 60 g/L을 각각의 편벨에 15 mL 넣고 메틸에틸케톤:헥산의 부피비를 10:0 ~5:5 로 조절한 혼합용매 15 mL 넣은 후 교반기를 이용하여 280 rpm에 30 분 교반한 후 추출 양상을 관찰하였다. 표 5에서 나타나는 바와 같이 1,3-프로판다이올 추출율은 메틸에틸케톤:헥산=10:0 일 경우 39%로 가장 높고 5:5인 경우 19%로 가장 낮으나, 메틸에틸케톤 부피 기반 1,3-프로판다이올 추출농도는 부피비에 상관없이 22-27 g/L로 일정함을 알 수 있다. 이로써 메틸에틸케톤과 헥산이 혼합된 용매를 사용하여도 메틸에틸케톤의 추출성능에는

영향을 주지 않음을 알 수 있고, 1,3-프로판다이올 추출양은 메틸에틸케톤의 부피에만 관련됨을 확인할 수 있다.

[0065] [표 5] 혼합용매 부피비에 따른 추출 양상

	메틸에틸케톤:헥산			
실제 부피	15 mL: 0 mL	12 mL : 3 mL	9 mL : 6 mL	7.5 mL :7.5 mL
부피비	10:0	8:2	6:4	5:5
추출율 (%)	39.3	26.9	25.7	19.4
용매 내 농도 (g/L)	25.3	17.3	16.5	12.5
용매 내 메틸에틸케톤 부피 기 반 농도 (g/L)	25.3	21.7	27.5	25.0

[0066]

[실시예 7] 용매 성분비 변화에 따른 층분리

[0067]

표 6에 나타나는 바와 같이, 1,3-프로판다이올 1.8 g을 포함한 메틸에틸케톤 15 mL에 물 1mL을 첨가한 경우 층분리가 일어나지 않으며, 물 3 mL을 첨가한 경우 층분리가 일어나지만 하층의 부피는 1 mL 미만이었다.

[0068]

[0069]

표 6에 나타나는 바와 같이, 1,3-프로판다이올 1.8 g 내지 2.2 g을 포함한 메틸에틸케톤 15 mL에 헥산 3.8 mL를 첨가하여(메틸에틸케톤:헥산=8:2) 교반한 후 관찰하면 층분리가 일어나지 않는다. 그러나, 1,3-프로판다이올 1.8 g을 포함한 메틸에틸케톤 15 mL에 헥산 15 mL를 첨가하여 용매 성분비를 변화시켜 (메틸에틸케톤:헥산=5:5) 교반한 후 관찰하면, 1~2분 후 상층과 하층으로 분리된다. 분석 결과, 하층의 부피는 1.2 mL, 1,3-프로판다이올 농도 800 g/L, 따라서 하층으로 분리된 1,3-프로판다이올 무게는 0.96 g으로써 회수율 53.2%였다. 위 상/하층 혼합용액에 물 1mL 을 첨가하여 교반한 후 관찰하면, 헥산을 첨가하지 않은 경우와는 다르게 즉시 상층과 하층으로 분리된다. 즉, 메틸에틸케톤을 단일용매로 사용하는 경우는 소량의 물과 층분리가 이루어지지 않아 역추출이 불가능하나, 메틸에틸케톤과 헥산이 혼합된 용매를 사용하면 소량의 물로도 층분리가 되며, 이로 인해 고농도로 1,3-프로판다이올 역추출이 가능하다.

[0070]

표 6에서 나타나는 바와 같이 물 1mL 을 첨가한 경우 하층에서의 1,3-프로판다이올 농도는 450 g/L, 하층으로 분리된 1,3-프로판다이올 무게는 1 g, 회수율 55.1%였다. 같은 방법으로 물 3mL을 첨가한 경우에도 상층과 하층으로 분리된다. 표 6에서 나타나는 바와 같이 물 3mL 을 첨가한 경우 하층에서의 1,3-프로판다이올 농도는 343 g/L, 하층으로 분리된 1,3-프로판다이올 무게는 1.44 g, 회수율 79.7%였으며, 물의 양이 증가하면 1,3-프로판다이올 회수율도 향상됨을 확인할 수 있다.

[0071]

표 6에 나타나는 바와 같이, 1,3-프로판다이올 0.625 g을 포함한 메틸에틸케톤 5 mL에 헵탄(heptanes) 5 mL를 첨가하여 용매 성분비를 변화시켜 (메틸에틸케톤:헵탄=5:5) 교반한 후 관찰하면, 즉시 상층과 하층으로 분리된다. 분석 결과, 하층의 부피는 0.5 mL, 1,3-프로판다이올 농도 1020 g/L, 따라서 하층으로 분리된 1,3-프로판다이올 무게는 0.53 g으로써 회수율 84.8%였다. 1,3-프로판다이올 밀도가 1.05 g/mL 임을 감안하면, 하층에 분리된 1,3-프로판다이올은 순도 97% 이상임을 확인할 수 있다.

[0072]

1,3-프로판다이올 0.6 g을 포함한 메틸에틸케톤 15 mL에 헵탄(heptanes) 15 mL를 첨가하여 단일층을 형성함을 확인한 후 용매 성분비를 변화시키기 위해 80도에서 가열하여 끓는 점이 낮은 메틸에틸케톤을 증발시키고자 하였다. 부피가 20 mL로 감소하였을 때, 실내온도로 식힌 결과 층분리가 일어났다. 분석 결과, 하층의 부피는 0.6 mL, 1,3-프로판다이올 농도 967.1 g/L, 따라서 하층으로 분리된 1,3-프로판다이올 무게는 0.58 g으로써 회수율 96.6%였다.

[0073] 위 실시예에서 분리된 고농도 1,3-프로판다이올이 포함된 하층에 포함된 메틸에틸케톤은 끓는점이 물보다 낮으므로 물과 함께 증발시킴으로써 제거될 수 있으며, 따라서 고순도의 1,3-프로판다이올을 얻을 수 있다.

[0074] [표 6] 용매성분비에 따른 층분리 및 1,3-프로판다이올 분리 양상

혼합용액 조성					가열 후 부피	층분리 여부	하층 부피	하층 1,3-프로판다이올 농도	1,3-프로판다이올 회수율
메틸에틸케톤	헥산	헵탄	물	1,3-프로판다이올					
15	·	·	1	0	·	x	·	·	·
15	·	·	1	1.8	·	x	·	·	·
15	·	·	3	0	·	o	<1	·	·
15	3.8	·		1.8~2.2	·	x	·	·	·
15	15	·		1.8	·	o	1.2	800	53.2
15	15	·	1	1.8	·	o	2.2	450	55.1
15	15	·	3	1.8	·	o	4.2	343	79.7
5	·	5	·	0.625	·	o	0.5	1020	84.8
15	·	15	·	0.6	·	x	·	·	·
15	·	15	·	0.6	20	o	0.6	967.1	96.6

[0075]

[0076] 본 발명이 속한 분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 상기 내용을 바탕으로 본 발명의 범주내에서 다양한 응용 및 변형을 행하는 것이 가능할 것이다.

도면의 간단한 설명

[0077] 도 1은 본 발명의 일실시예에 따른 1,3-프로판다이올의 분리 방법을 나타내는 모식도이다.

도면

도면1

