



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2013-0032732
 (43) 공개일자 2013년04월02일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
 C13K 1/02 (2006.01) C12P 7/40 (2006.01)
 C12P 7/02 (2006.01) C12N 1/20 (2006.01)
 (21) 출원번호 10-2011-0096498
 (22) 출원일자 2011년09월23일
 심사청구일자 2011년09월23일

(71) 출원인
 한국과학기술연구원
 서울특별시 성북구 화랑로14길 5 (하월곡동)
 (72) 발명자
 엄영순
 서울특별시 동대문구 사가정로 148, 110동 1501호
 (전농동, 전농 SK아파트)
 이경민
 서울특별시 중구 퇴계로 330 (광희동2가)
 (뒷면에 계속)
 (74) 대리인
 김 순 영, 김영철

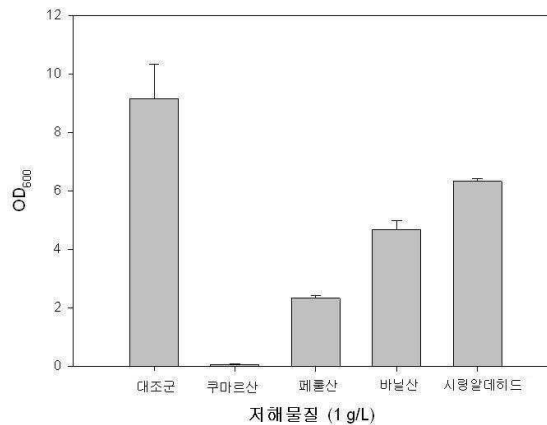
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 **독성이 감소 또는 제거된 목질계 바이오매스 당화액의 제조방법 및 이를 이용한 유기산 또는 바이오 연료의 제조방법**

(57) 요약

본 발명은 목질계 바이오매스를 가수분해 전처리한 당화액을 준비하는 단계; 및 상기 당화액에 계면활성제를 첨가하여 독성을 감소시키는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 독성이 감소 또는 제거된 목질계 바이오매스 당화액의 무독화 방법을 제공한다. 본 발명에 의한 무독화 방법은 전처리 과정 중에 생성되는 미생물 성장 및 발효를 저해하는 리그닌 유래 화합물들의 독성을 효율적으로 제거할 수 있다. 또한 독성 제거 과정 중에 당의 손실이 없고 부가적인 비용을 최소화함으로써 생산효율을 높일 수 있다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

김기연

서울특별시 동작구 남부순환로269길 110, 201호 (사당동)

김연제

서울특별시 중랑구 신내동 622 동성아파트 13동 208호

상병인

서울특별시 성북구 정릉로 404 (돈암동)

특허청구의 범위

청구항 1

목질계 바이오매스를 가수분해 전처리한 당화액을 준비하는 단계; 및

상기 당화액에 계면활성제를 첨가하여 독성을 감소 또는 제거시키는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 독성이 감소 또는 제거된 목질계 바이오매스 당화액의 제조방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 계면활성제는 당화액 내의 페놀계 화합물의 소수성 부분과 반응하여 미셀(micelle)을 형성하는 것을 특징으로 하는 독성이 감소 또는 제거된 목질계 바이오매스 당화액의 제조방법.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 페놀계 화합물은 페룰산(ferulic acid), 쿠마르산(coumaric acid), 벤조산(benzoic acid), 시링산(syringic acid), 바닐산(vanilic acid), 바틸린(valilin), 4-하이드록시벤조산(4-hydroxybenzoic acid), 4-하이드록시벤즈알데하이드(4-hydroxybenzaldehyde) 및 시링알데하이드(syringaldehyde)으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상인 것을 특징으로 하는 독성이 감소 또는 제거된 목질계 바이오매스 당화액의 제조방법.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 계면활성제는 트윈 20(Tween 20), 트윈 40(Tween 40), 트윈 60(Tween 60) 또는 트윈 80(Tween 80)을 포함하는 것을 특징으로 하는 독성이 감소 또는 제거된 목질계 바이오매스 당화액의 제조방법.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 계면활성제의 함량은 당화액을 기준으로 0.01~10 g/L 인 것을 특징으로 하는 독성이 감소 또는 제거된 목질계 바이오매스 당화액의 제조방법.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항의 무독화 방법에 의해 독성이 감소 또는 제거된 목질계 바이오매스 당화액을 발효시키는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 유기산 또는 바이오 연료의 제조방법.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 발효는 당화액에 미생물을 투입하여 이루어지는 것을 특징으로 하는 유기산 또는 바이오 연료의 제조방법.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 미생물은 효모, 유산균, 클로스트리디움(Clostridium), 대장균 및 바실러스(Bacillus)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상인 것을 특징으로 하는 유기산 또는 바이오 연료의 제조방법.

청구항 9

제7항에 있어서,

상기 미생물은, 아나에로믹소박터(*Anaeromyxobacter*), 알칼리게네스(*Alcaligenes*), 박테로이데스(*Bacteroides*), 바실러스(*Bacillus*), 클로스트리디움(*Clostridium*), 에스케리키아(*Escherichia*), 락토바실러스(*Lactobacillus*), 락토코커스(*Lactococcus*), 피키아(*Pichia*), 슈도모나스(*Pseudomonas*), 랄스토니아(*Ralstonia*), 로도코커스(*Rhodococcus*), 사카로마이세스(*Saccharomyces*), 스트렙토마이세스(*Streptomyces*), 썬머스(*Thermus*), 썬머토가(*Thermotoga*), 썬모아나에로박터(*Thermoanaerobacter*) 및 자이모모나스(*Zymomonas*)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상인 것을 특징으로 하는 유기산 또는 바이오 연료의 제조방법.

청구항 10

제7항에 있어서,

상기 미생물은 클로스트리디움 베이어린키(*Clostridium beijerinckii*), 클로스트리디움 아세토부티리쿰(*Clostridium acetobutyricum*), 클로스트리디움 부티리쿰(*Clostridium butyricum*), 클로스트리디움 셀룰로리티쿰(*Clostridium cellulolyticum*), 클로스트리디움 썬모셀럼(*Clostridium thermocellum*), 클로스트리디움 퍼프린젠스(*Clostridium perfringens*), 클로스트리디움 스포로제네스(*Clostridium sporogenes*), 클로스트리디움 썬모하이드로썬퓨리쿰(*Clostridium thermohydrosulfuricum*), 클로스트리디움 클루이베리(*Clostridium kluyveri*), 클로스트리디움 에시디톨러런스(*Clostridium aciditolerans*), 클로스트리디움 파스테우리아눔(*Clostridium pasteurianum*), 클로스트리디움 융다히(*Clostridium ljungdahlii*), 클로스트리디움 오토에타노제눔(*Clostridium autoethanogenum*), 클로스트리디움 포미코아세티쿰(*Clostridium formicoacticum*), 클로스트리디움 썬모아세티쿰(*Clostridium thermoaceticum*), 클로스트리디움 아세티쿰(*Clostridium aceticum*) 및 클로스트리디움 타이로부티리쿰(*Clostridium tyrobutyricum*)으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상인 것을 특징으로 하는 유기산 또는 바이오 연료의 제조방법.

청구항 11

제6항에 있어서,

상기 유기산은 젖산(lactic acid), 아세트산(acetic acid), 부티르산(butyric acid) 또는 헥사노익산(hexanoic acid)인 것을 특징으로 하는 유기산 또는 바이오 연료의 제조방법.

청구항 12

제6항에 있어서,

상기 바이오 연료는 아세톤(acetone), 에탄올(ethanol) 또는 부탄올(butanol) 인 것을 특징으로 하는 유기산 또는 바이오 연료의 제조방법.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 독성이 감소 또는 제거된 목질계 바이오매스 당화액의 무독화 방법 및 이를 이용한 유기산 또는 바이오 연료의 제조방법에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 석유자원의 고갈 및 고유가 문제는 화학 산업 및 전체 산업에 큰 영향을 미치게 된다. 또한 화석연료의 사용으로 인한 이산화탄소의 배출과 그에 따른 지구온난화 문제는 환경 친화적이며, 지속가능한 재생에너지로의 변화를 촉진시켜 왔다. 신재생 대체 에너지는 기술적 타당성, 경제성 및 환경친화성 등을 모두 갖추어야 하며 수력을 비롯한 태양력, 풍력, 수소, 바이오매스 등과 같은 석유 대체 에너지원의 개발이 활발히 이루어지고 있다. 바이오매스는 식물성 원료를 이용하여 바이오연료 및 전기, 열 등을 생산하는 신재생 에너지로서 환경친화성, 경제성 및 기술적 타당성면에서 가능한 대안으로 각광받고 있다.

[0003] 그러나 목질계 바이오매스(lignocellulosic biomass)의 가수분해 전처리 과정 중에 저해물질이 생기게 되는데 이는 크게 폐놀계 화합물과 비폐놀계 화합물로 나눌 수 있다. 이들 독성물질은 미생물의 성장 및 발효를 저해하며, 이로 인하여 유기산 및 알코올의 생산 효율이 떨어지는 문제점이 있다.

[0004] 그러므로, 높은 수율의 제품을 얻기 위하여 발효 전에 가수분해물의 무독화가 필요하다. 목질계 바이오매스 분

해산물 중 저해물질(inhibitor)을 제거하는 무독화 방법은 크게 물리화학적 방법과 생물학적 방법으로 나눌 수 있다. 이러한 방법들은 발효 저해물질의 제거 효율이 높지 않으며 발효 저해물질의 종류에 따라 서로 다른 제거 효율을 나타낸다. 그리고, 발효 저해물질을 제거하기 위한 기존의 흡착법의 경우 무독화과정 중에 당 성분까지 제거되어 발효 수율이 떨어지는 문제점이 있다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0005] (특허문헌 0001) 한국 공개 특허 공보 제10-2009-0003967호
- (특허문헌 0002) 한국 등록 특허 공보 제10-0879317호

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0006] 본 발명은 상기와 같은 문제점을 해결하기 위해, 전처리 과정에서 미생물 성장 및 발효를 저해하는 리그닌 유래 발효 저해물질들의 독성을 제거 또는 감소함과 동시에 당의 손실을 없게 하고 처리비용을 최소화함을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

- [0007] 상기 목적을 달성하기 위해 본 발명은 목질계 바이오매스를 가수분해 전처리한 당화액을 준비하는 단계; 및 상기 당화액에 계면활성제를 첨가하여 독성을 감소 또는 제거시키는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 독성이 감소 또는 제거된 목질계 바이오매스 당화액의 제조방법을 제공한다.
- [0008] 본 발명에서 상기 계면활성제는 당화액 내의 페놀계 화합물의 소수성 부분과 반응하여 미셀(micelle)을 형성할 수 있다.
- [0009] 본 발명에서 상기 페놀계 화합물은 페룰산(ferulic acid), 쿠마르산(coumaric acid), 벤조산(benzoic acid), 시링산(syringic acid), 바닐산(vanilic acid), 바틸린(valilin), 4-하이드록시벤조산(4-hydroxybenzoic acid), 4-하이드록시벤즈알데하이드(4-hydroxybenzaldehyde) 및 시링알데하이드(syringaldehyde)로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상일 수 있다.
- [0010] 본 발명에서 상기 계면활성제는 상기 계면활성제는 트윈 20(Tween 20), 트윈 40(Tween 40), 트윈 60(Tween 60) 또는 트윈 80(Tween 80)을 포함할 수 있다.
- [0011] 본 발명에서 상기 계면활성제의 함량은 당화액을 기준으로 0.01~10 g/L 일 수 있다.
- [0012] 본 발명은 상기 무독화 방법에 의해 독성이 감소 또는 제거된 목질계 바이오매스 당화액을 발효시키는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 유기산 또는 바이오 연료의 제조방법을 제공한다.
- [0013] 본 발명에서 상기 발효는 당화액에 미생물을 투입하여 이루어질 수 있다.
- [0014] 본 발명에서 상기 미생물은 효모, 유산균, 클로스트리디움(*Clostridium*), 대장균 및 바실러스(*Bacillus*)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상일 수 있다.
- [0015] 본 발명에서 상기 미생물은, 아나에로믹소박터 속(*Anaeromyxobacter sp.*), 알칼리게네스 속(*Alcaligenes sp.*), 박테로이데스 속(*Bacteroides sp.*), 바실러스 속(*Bacillus sp.*), 클로스트리디움 속(*Clostridium sp.*), 에스케리키아 속(*Escherichia sp.*), 락토바실러스 속(*Lactobacillus sp.*), 락토코커스 속(*Lactococcus sp.*), 피키아 속(*Pichia sp.*), 슈도모나스 속(*Pseudomonas sp.*), 랄스토니아 속(*Ralstonia sp.*), 로도코커스 속(*Rhodococcus sp.*), 사카로마이세스 속(*Saccharomyces sp.*), 스트렙토마이세스 속(*Streptomyces sp.*), 써머스 속(*Thermus sp.*), 써머토가 속(*Thermotoga sp.*), 써모아나에로박터 속(*Thermoanaerobacter sp.*) 및 자이모모나스 속(*Zymomonas sp.*)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상인 것일 수 있다.
- [0016] 본 발명에서 상기 미생물은 클로스트리디움 베이어린키(*Clostridium beijerinckii*), 클로스트리디움 아세토부티리쿰(*Clostridium acetobutyricum*), 클로스트리디움 부티리쿰(*Clostridium butyricum*), 클로스트리디움 셀룰로

리티쿰(*Clostridium cellulolyticum*), 클로스트리디움 썬모셀럼(*Clostridium thermocellum*), 클로스트리디움 퍼프린젠스(*Clostridium perfringens*), 클로스트리디움 스포로제네스(*Clostridium sporogenes*), 클로스트리디움 썬모하이드로썬유리쿰(*Clostridium thermohydrosulfuricum*), 클로스트리디움 클루이베리(*Clostridium kluyveri*), 클로스트리디움 애시디톨러런스(*Clostridium aciditolerans*), 클로스트리디움 파스테우리아눔(*Clostridium pasteurianum*), 클로스트리디움 융다히(*Clostridium ljungdahlii*), 클로스트리디움 오토에타노제눔(*Clostridium autoethanogenum*), 클로스트리디움 포미코아세티쿰(*Clostridium formicoacticum*), 클로스트리디움 썬모아세티쿰(*Clostridium thermoaceticum*), 클로스트리디움 아세티쿰(*Clostridium aceticum*) 및 클로스트리디움 타이로부티리쿰(*Clostridium tyrobutyricum*)으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상인 것일 수 있다.

[0017] 본 발명에서 상기 유기산은 젖산(lactic acid), 아세트산(acetic acid), 부티르산(butyric acid) 또는 헥사노익산(hexanoic acid)일 수 있다.

[0018] 본 발명에서 상기 바이오 연료는 비제한적인 예로, 아세톤(acetone), 에탄올(ethanol) 또는 부탄올(butanol)일 수 있다.

발명의 효과

[0019] 본 발명에 의한 무독화 방법은 전처리 과정 중에 생성되는 미생물 성장 및 발효를 저해하는 리그닌 유래 화합물들의 독성을 효율적으로 제거할 수 있다. 또한 독성 제거 과정 중에 당의 손실이 없고 부가적인 비용을 최소화함으로써 생산효율을 높일 수 있다. 따라서, 목질계 바이오매스를 이용하여 보다 효율적으로 유기산 또는 바이오 연료를 제조할 수 있는 장점이 있다.

도면의 간단한 설명

[0020] 도 1은 각 폐놀계 화합물의 종류에 따른 클로스트리디움 타이로부티리쿰의 성장 결과를 보여주는 그래프이다.

도 2는 각 폐놀계 화합물의 종류에 따른 부티르산 생성 농도를 나타내는 그래프이다.

도 3은 각 폐놀계 화합물 종류 및 계면활성제 첨가 여부에 따라 클로스트리디움 타이로부티리쿰의 성장 결과를 보여주는 그래프이다.

도 4는 각 폐놀계 화합물의 종류 및 계면활성제 첨가 여부에 따라 클로스트리디움 타이로부티리쿰을 이용한 부티르산 생성농도를 보여주는 그래프이다.

도 5는 용해 리그닌에 의한 독성과 계면활성제 첨가 여부에 따른 클로스트리디움 타이로부티리쿰의 성장 및 부티르산 생성농도를 보여주는 그래프이다.

도 6는 용해 리그닌에 의한 독성과 계면활성제 첨가 여부에 따른 클로스트리디움 아세토부티리쿰의 성장 및 부탄올 생성농도를 보여주는 그래프이다.

도 7는 용해 리그닌에 의한 독성과 계면활성제 첨가 여부에 따른 클로스트리디움 베이어린키의 성장 및 부탄올 생성농도를 보여주는 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0021] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0022] 석유자원 고갈 및 지구온난화 문제로 인해 대체 에너지로 사용되는 유기산 또는 바이오 연료는 목질계 바이오매스를 이용한 당화액을 발효시켜 제조된다.

[0023] 목질계 바이오매스는 침엽수와 활엽수, 수종, 수령 등에 따라서 목재를 구성하는 화학성분의 조성 및 함량이 다르지만, 일반적으로는 셀룰로오스(cellulose), 헤미셀룰로오스(hemicellulose), 리그닌(lignin) 등으로 구성된 복합체인 리그노셀룰로스(lignocellulose)로 이루어져 있다.

[0024] 상기 셀룰로오스는 포도당이 -1,4 결합으로 주로 연결된 다당류로서 포도당이 α-1,4 결합으로 연결되어 안정화된 나선형 구조의 녹말인 아밀로오스(amylose)와는 달리 나선형 구조가 아닌 직선 구조가 안정된 형태를 이루기 때문에 똑같이 포도당으로 구성된 녹말보다는 자연적으로 훨씬 물리적, 화학적으로 튼튼한 구조를 이루고 있다.

[0025] 상기 헤미셀룰로오스는 상기 셀룰로오스보다 당의 중합도(degree of polymerization)가 낮은 다당체로서 주로 5

탄당인 자일로오스(xylose)의 중합체로 구성되고, 그 외에도 5탄당인 아리비노오스(arabinose)와 6탄당인 만노오스(mannose), 갈락토오스(galactose), 포도당 등의 중합체로 구성되어 있다. 상기 헤미셀룰로오스는 상기 셀룰로오스에 비해서 중합도가 낮고 구조의 규칙성이 낮아서 바이오매스의 전처리에 의해 분해가 비교적 쉽게 이루어지는 특징이 있다.

- [0026] 상기 리그닌(lignin)은 메톡실화(methoxylation)된 쿠마릴 알코올(p-coumaryl alcohol), 코니퍼릴 알코올(coniferyl alcohol), 시나필 알코올(sinapyl alcohol) 등이 중합되어 있어서 다량의 방향족 화합물을 포함함과 아울러 소수성을 띠고 있는 거대한 분자량의 복잡한 구조를 지닌 중합체이다. 상기 리그닌은 자연적으로나 화학적으로 강한 내구성을 가지고 있어 자연계에 존재하는 천연 화합물 중의 가장 분해가 어려운 물질로 간주되고 있다.
- [0027] 상기 리그닌은 헤미셀룰로오스와 공유결합을 통해 결합되고 상기 헤미셀룰로오스는 상기 셀룰로오스와 수소결합을 통해 연결되어 있어서, 상기 리그노셀룰로오스는 전체적으로 보면 직선의 끝은 형태로 이루어진 셀룰로오스 마이크로파이버릴(microfibril)을 가운데 두고, 헤미셀룰로오스가 수소결합을 통해 감싸는 모습으로 붙어 있고, 이러한 헤미셀룰로오스를 리그닌이 다시 공유결합을 통한 연결로 둘러싼 형태를 갖는다.
- [0028] 실제로 목질계 바이오매스를 원료로 한 바이오연료 제조의 기술적, 경제적 어려움은 전분계 및 당질계에 비해 상대적으로 높은 리그닌 함량에 기인한다.
- [0029] 상기 목질계 바이오매스는 셀룰로오스가 33 내지 51중량%, 헤미셀룰로오스가 19 내지 34 중량%, 리그닌이 21 내지 32 중량%, 재가 0 내지 2 중량%, 기타 성분이 나머지로 포함된다. 전처리 과정에서 상기 셀룰로오스 및 상기 헤미셀룰로오스 성분은 글루코오스(glucose), 갈락토오스(galactose), 만노스(mannose), 램노스(rhamnose), 자일로오스(xylose) 및 아라비노오스(arabinose)를 포함하는 5탄당 또는 6탄당으로 가수분해 된다. 당 성분 이외에도 가수분해로 인해 푸란(furan), 하이드록시메틸푸르푸랄(HMF), 푸르푸랄(furfural), 약산 등의 비폐놀계 화합물들이 생성된다. 상기 리그닌 성분은 가수분해될 경우 페룰산(ferulic acid), 쿠마르산(coumaric acid), 벤조산(benzoic acid), 시링산(syringic acid), 바닐산(vanilic acid), 바틸린(valilil), 4-하이드록시벤조산(4-hydroxybenzoic acid), 4-하이드록시벤즈알데하이드(4-hydroxybenzaldehyde), 시링알데하이드(syringaldehyde) 등의 폐놀계 화합물들이 생성된다.
- [0030] 상기 목질계 바이오매스의 가수분해로 생성된 화합물들 중 발효 저해물질인 폐놀계 화합물들은 미생물 성장 및 미생물을 이용한 유기산 또는 바이오 연료의 제조 수율을 떨어뜨리는 작용을 한다.
- [0031] 목질계 바이오매스 당화액을 효율적으로 이용하기 위해서는 폐놀계 화합물의 독성을 반드시 낮춰야 한다. 본 발명자들은 목질계 바이오매스를 가수분해 전처리한 당화액에 계면활성제를 첨가하면, 계면활성제가 당화액 내의 폐놀계 화합물의 소수성 부분을 감싸서 미셀(micelle)을 형성하여 독성을 제거 또는 감소하는 것을 알아냈다. 종래에는 목질계 가수분해물에서 발견되는 리그닌 유래 발효저해물질의 무독화 방법에 대해 계면활성제를 사용한 전례가 없다.
- [0032] 본 발명에서 적합한 계면활성제는 이온성 계면활성제, 비이온성 계면활성제, 양쪽 이온성 계면활성제, 중합체성 계면활성제, 인지질, 생물학적으로 유래된 계면활성제, 아미노산 및 이들의 유도체, 또는 상기 기재된 계면활성제의 유도체, 조합물 또는 접합체로부터 선택될 수 있다. 이온성 계면활성제는 음이온성 또는 양이온성일 수 있다.
- [0033] 적합한 음이온성 계면활성제에는, 이에 제한되지 않지만, 알킬 술포네이트, 아릴 술포네이트, 알킬 포스페이트, 알킬 포스포네이트, 칼륨 라우레이트, 나트륨 라우릴 술포이트, 나트륨 도데실술포이트, 알킬 폴리옥시에틸렌술포이트, 나트륨 알기네이트, 디옥틸 나트륨 술포숙시네이트, 포스파티드산 및 이들의 염, 나트륨 카르복시메틸셀룰로스, 담즙산 및 이들의 염, 콜산, 테옥시콜산, 글리코콜산, 타우로콜산 및 글리코테옥시콜산, 및 칼슘 카르복시메틸셀룰로스, 스테아르산 및 그의 염, 칼슘 스테아레이트, 포스페이트, 나트륨 도데실술포이트, 카르복시메틸셀룰로스 칼슘, 카르복시메틸셀룰로스 나트륨, 디옥틸술포숙시네이트, 나트륨 술포숙신산의 디알킬에스테르, 나트륨 라우릴 술포이트 및 인지질이 포함된다.
- [0034] 적합한 양이온성 계면활성제에는, 이에 제한되지 않지만, 4급 암모늄 화합물, 벤즈알코늄 클로라이드, 세틸트리메틸암모늄 브로마이드, 키토산, 라우릴디메틸벤질암모늄 클로라이드, 아실 카르니틴 히드로클로라이드, 알킬피리디늄 할라이드, 세틸 피리디늄 클로라이드, 양이온성 지질, 폴리메틸메타크릴레이트 트리메틸암모늄 브로마이드, 술포늄 화합물, 폴리비닐피롤리돈-2-디메틸아미노에틸 메타크릴레이트 디메틸 술포이트, 헥사데실트리메틸암모늄 브로마이드, 포스포늄 화합물, 4급 암모늄 화합물, 벤질-디(2-클로로에틸)에틸암모늄 브로마이드, 코코

넷 트리메틸 암모늄 클로라이드, 코코넛 트리메틸 암모늄 브로마이드, 코코넛 메틸 디히드록시에틸 암모늄 클로라이드, 코코넛 메틸 디히드록시에틸 암모늄 브로마이드, 데실 트리에틸 암모늄 클로라이드, 데실 디메틸 히드록시에틸 암모늄 클로라이드, 데실 디메틸 히드록시에틸 암모늄 클로라이드 브로마이드, C₁₂₋₁₅-디메틸 히드록시에틸 암모늄 클로라이드, C₁₂₋₁₅-디메틸 히드록시에틸 암모늄 클로라이드 브로마이드, 코코넛 디메틸 히드록시에틸 암모늄 클로라이드, 코코넛 디메틸 히드록시에틸 암모늄 브로마이드, 미리스틸 트리메틸 암모늄 메틸술페이트, 라우릴 디메틸 벤질 암모늄 클로라이드, 라우릴 디메틸 벤질 암모늄 브로마이드, 라우릴 디메틸 (에테녹시)4 암모늄 클로라이드, 라우릴 디메틸 (에테녹시)4 암모늄 브로마이드, N-알킬 (C₁₂₋₁₈)디메틸벤질 암모늄 클로라이드, N-알킬 (C₁₄₋₁₈)디메틸-벤질 암모늄 클로라이드, N-테트라데실디메틸벤질 암모늄 클로라이드 일수화물, 디메틸 디데실 암모늄 클로라이드, N-알킬 및 (C₁₂₋₁₄)디메틸 1-나프틸메틸 암모늄 클로라이드, 트리메틸암모늄 할라이드 알킬-트리메틸암모늄 염, 디알킬-디메틸암모늄 염, 라우릴 트리메틸 암모늄 클로라이드, 에톡실화 알킬아미도알킬디알킬암모늄 염, 에톡실화 트리알킬 암모늄 염, 디알킬벤젠 디알킬암모늄 클로라이드, N-디데실디메틸 암모늄 클로라이드, N-테트라데실디메틸벤질 암모늄 클로라이드 일수화물, N-알킬(C₁₂₋₁₄) 디메틸 1-나프틸메틸 암모늄 클로라이드, 도데실디메틸벤질 암모늄 클로라이드, 디알킬 벤젠알킬 암모늄클로라이드, 라우릴 트리메틸 암모늄 클로라이드, 알킬벤질 메틸 암모늄 클로라이드, 알킬 벤질 디메틸 암모늄브로마이드, C₁₂ 트리메틸 암모늄 브로마이드, C₁₅ 트리메틸 암모늄 브로마이드, C₁₇ 트리메틸 암모늄 브로마이드, 도데실벤질 트리에틸 암모늄 클로라이드, 폴리디알릴디메틸암모늄 클로라이드 (DADMAC(DADMAC)), 디메틸 암모늄 클로라이드, 알킬디메틸암모늄 할로게니드, 트리세틸 메틸 암모늄 클로라이드, 데실트리메틸암모늄 브로마이드, 도데실트리에틸암모늄 브로마이드, 테트라데실트리메틸암모늄 브로마이드, 메틸 트리옥틸암모늄 클로라이드, "폴리쿼트 (POLYQUAT) 10" (중합체성 4급 암모늄 화합물의 혼합물), 테트라부틸암모늄 브로마이드, 벤질 트리메틸암모늄 브로마이드, 콜린 에스테르, 벤즈알코늄 클로라이드, 스테아르알코늄 클로라이드, 세틸 피리디늄

[0035] 브로마이드, 세틸 피리디늄 클로라이드, 4급화 폴리옥시에틸알킬아민의 할라이드 염, "미라폴(MIRAPOL)" (폴리 폴리쿼터늄-2) "알카쿼트(Alkaquat)" (알킬 디메틸 벤질암모늄 클로라이드, 로디아(Rhodia)에 의해 제조됨), 알킬 피리디늄 염, 아민, 아민 염, 이미드 아졸리늄 염, 양성자화 4급 아르틸아미드, 메틸화 4급 중합체, 및 양이온성 구아 검. 벤즈알코늄 클로라이드, 도데실 트리메틸 암모늄 브로마이드, 트리에탄올아민 및 폴옥사민이 포함된다.

[0036] 적합한 비이온성 계면활성제에는, 이에 제한되지 않지만, 폴리옥시에틸렌 지방 알콜 에테르, 폴리옥시에틸렌 소르비탄 지방산 에스테르, 알킬 폴리옥시에틸렌 술페이트, 폴리옥시에틸렌 지방산 에스테르, 소르비탄 에스테르, 글리세릴 에스테르, 글리세롤 모노스테아레이트, 폴리에틸렌 글리콜, 폴리프로필렌 글리콜, 폴리프로필렌 글리콜 에스테르, 세틸 알콜, 세토스테아릴 알콜, 스테아릴 알콜, 아릴 알킬 폴리에테르 알콜, 폴리옥시에틸렌-폴리옥시프로필렌 공중합체, 폴옥사머, 폴옥사민, 메틸셀룰로스, 히드록시셀룰로스, 히드록시메틸셀룰로스, 히드록시프로필셀룰로스, 히드록시프로필메틸셀룰로스, 비결정질 셀룰로스, 다당류, 전분, 전분 유도체, 히드록시에틸 전분, 폴리비닐 알콜, 폴리비닐피롤리돈, 트리에탄올아민 스테아레이트, 아민 옥시드, 텍스트란, 글리세롤, 아카시아 검, 콜레스테롤, 트레가칸트, 글리세롤 모노스테아레이트, 세토스테아릴 알콜, 세토마크로콜 유화 왁스, 소르비탄 에스테르, 폴리옥시에틸렌 알킬 에테르, 폴리옥시에틸렌 피마자유 유도체, 폴리옥시에틸렌 소르비탄 지방산 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜, 폴리옥시에틸렌 스테아레이트, 히드록시프로필 셀룰로스, 히드록시프로필 메틸셀룰로스, 메틸셀룰로스, 히드록시에틸셀룰로스, 히드록시프로필메틸셀룰로스 프탈레이트, 비결정질 셀룰로스, 폴리비닐 알콜, 폴리비닐피롤리돈, 에틸렌 옥시드와 포름알데히드와의 4-(1,1,3,3-테트라메틸부틸)페놀 중합체, 폴옥사머, 알킬 아릴 폴리에테르 술포네이트, 수크로스 스테아레이트와 수크로스 디스테아레이트의 혼합물, p-이소노닐페녹시폴리(글리시돌), 데카노일-N-메틸글루카미드, n-데실-β-D-글루코피라노시드, n-데실-β-D-말토피라노시드, n-도데실-β-D-글루코피라노시드, n-도데실-β-D-말토시드, 헵타노일-N-메틸글루카미드, n-헵탈-β-D-글루코피라노시드, n-헵탈-β-D-티오글루코시드, n-헥실-β-D-글루코피라노시드, 노나노일-N-메틸글루카미드, n-노닐-β-D-글루코피라노시드, 옥타노일-N-메틸글루카미드, n-옥틸-β-D-글루코피라노시드, 옥틸-β-D-티오글루코피라노시드, PEG-콜레스테롤, PEG-콜레스테롤 유도체, PEG-비타민 A, PEG-비타민 E, 및 비닐 아세테이트와 비닐 피롤리돈의 랜덤 공중합체가 포함된다.

[0037] 양쪽 이온성 계면활성제는 전기적으로 중성이지만 동일 분자 내에서 국부적인 양전하 및 음전하를 보유한다. 적합한 양쪽 이온성 계면활성제에는, 이에 제한되지 않지만, 양쪽 이온성 인지질이 포함된다. 적합한 인지질에는 포스파티딜콜린, 포스파티딜에탄올아민, 디아실-글리세로-포스포에탄올아민 (예컨대, 디미리스토일-글리세로-포

스포에탄올아민 (DMPE), 디팔미토일-글리세로-포스포에탄올아민 (DPPE), 디스테아로일-글리세로-포스포에탄올아민 (DSPE) 및 디올레올릴-글리세로-포스포에탄올아민 (DOPE)이 포함된다. 음이온성 및 양쪽 이온성 인지질을 포함하는 인지질 혼합물이 본 발명에서 사용될 수 있다. 이러한 혼합물에는, 이에 제한되지 않지만, 라이소인지질, 달걀 또는 대두 인지질, 또는 이의 임의의 조합물이 포함된다.

- [0038] 적합한 중합체성 계면활성제에는, 이에 제한되지 않지만, 폴리아미드, 폴리카르보네이트, 폴리알킬렌, 폴리알킬렌 글리콜, 폴리알킬렌 옥사이드, 폴리알킬렌 테레프탈레이트, 폴리비닐 알콜, 폴리비닐 에테르, 폴리비닐 에스테르, 폴리비닐 할라이드, 폴리비닐피롤리돈, 폴리글리콜리드, 폴리실록산, 폴리우레탄 및 이의 공중합체, 알킬셀룰로스, 히드록시알킬 셀룰로스, 셀룰로스 에테르, 셀룰로스 에스테르, 니트로 셀룰로스, 아크릴계 및 메타크릴계 에스테르의 중합체, 메틸 셀룰로스, 에틸 셀룰로스, 히드록시프로필 셀룰로스, 히드록시-프로필 메틸 셀룰로스, 히드록시부틸 메틸 셀룰로스, 셀룰로스 아세테이트, 셀룰로스 프로피오네이트, 셀룰로스 아세테이트 부티레이트, 셀룰로스 아세테이트 프탈레이트, 카르복실에틸 셀룰로스, 셀룰로스 트리아세테이트, 셀룰로스 술페이트 나트륨 염, 폴리(메틸 메타크릴레이트), 폴리(에틸메타크릴레이트), 폴리(부틸메타크릴레이트), 폴리(이소부틸 메타크릴레이트), 폴리(헥실메타크릴레이트), 폴리(이소데실메타크릴레이트), 폴리(라우릴 메타크릴레이트), 폴리(페닐 메타크릴레이트), 폴리(메틸 아크릴레이트), 폴리(이소프로필 아크릴레이트), 폴리(이소부틸 아크릴레이트), 폴리(옥타데실 아크릴레이트), 폴리에틸렌, 폴리프로필렌 폴리(에틸렌 글리콜), 폴리(에틸렌 옥사이드), 폴리(에틸렌 테레프탈레이트), 폴리(비닐 알콜), 폴리(비닐 아세테이트), 폴리 비닐 클로라이드 폴리스티렌 및 폴리비닐피롤리돈이 포함된다.
- [0039] 적합한 생물학적으로 유래된 계면활성제에는, 이에 제한되지 않지만, 지질단백질, 젤라틴, 카세인, 라이소자임, 알부민, 카세인, 헤파린, 히루딘, 또는 기타 단백질이 포함된다.
- [0040] 바람직한 계면활성제로 비이온성 계면활성제를 사용할 수 있고, 예를 들어, 트윈 20(Tween 20: Polysorbate 20), 트윈 40(Tween 40: Polysorbate 40), 트윈 60(Tween 60: Polysorbate 60), 트윈 80(Tween 80: Polysorbate 80)을 사용할 수 있다.
- [0041] 상기 계면활성제의 함량은 당화액을 기준으로 0.01~10 g/L, 구체적으로는 0.5~5 g/L, 더욱 구체적으로 1 g/L 로 포함될 수 있다. 계면활성제의 함량이 0.01 g/L 미만이면, 독성 제거 효과가 미미한 문제가 발생한다.
- [0042] 본 발명에서 사용한 상기 목질계 바이오매스 당화액의 구성 성분에는 글루코스(glucose)가 50 g/L, 자일로스(xylose)와 만노스(mannose)가 23 g/L가 포함되어있고, 전처리 과정 중 생성된 리그닌 유래 발효 저해물질인 페룰산(ferulic acid), 쿠마르산(coumaric acid), 벤조산(benzoic acid), 시링산(syringic acid), 바닐산(vanilic acid), 바틸린(valilin), 4-하이드록시벤조산(4-hydroxybenzoic acid), 4-하이드록시벤즈알데하이드(4-hydroxybenzaldehyde), 시링알데하이드(syringaldehyde) 등의 페놀계 화합물들이 0.67 g/L 포함되어 있다.
- [0043] 상술한 당화액 내용물 중 리그닌 유래 발효 저해물질은 미생물의 세포막 기능을 상실하게 하거나 세포막의 전기 화학적 균형을 파괴하여 미생물의 성장과 유기산 또는 바이오 알코올 생산성을 떨어뜨리는 작용을 하며 미생물을 이용하는 유기산 또는 바이오연료의 발효에 상당한 영향을 준다.
- [0044] 본 발명은 상기 무독화 방법에 의해 독성이 감소된 목질계 바이오매스 당화액을 발효시키는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 유기산 또는 바이오 연료의 제조방법을 제공한다.
- [0045] 상기 당화액에는 미생물이 이용하여 발효할 수 있는 당이 포함되어 있다.
- [0046] 상기 발효는 당화액에 미생물을 이용하는 생물학적인 처리를 통해 가능하다. 즉, 상기 당화액의 발효는 상기 당화액에 투입되는 미생물에 의해 이루어질 수 있다. 상기 당화액의 발효시 이용되는 미생물은 카르복실산 생산성 및 카르복실산에 대한 내성, 당화액에 잔류할 수 있는 발효 저해 물질에 대한 내성, 및 5탄당 및 6탄당에 대한 발효능 등을 고려하여 선택할 수 있다.
- [0047] 상기 미생물로는 특별히 한정되지 않으나, 예를 들어, 효모, 유산균, 클로스트리디움(*Clostridium*), 대장균, 바실러스(*Bacillus*) 등을 포함하는 균주군 중에서 상기 균주들을 단독으로 또는 2종 이상을 조합하여 사용할 수 있다. 상기 균주들은 자연적으로 카르복실산을 생산하거나, 또는 균주 개량을 통해 카르복실산 생산 능력을 부여받거나, 또는 균주 개량을 통해 카르복실산 생산 능력이 강화될 수 있다.
- [0048] 상기 미생물의 구체적인 예로서 아나에로미소박터 속(*Anaeromyxobacter sp.*), 알칼리게네스 속(*Alcaligenes sp.*), 박테로이데스 속(*Bacteroides sp.*), 바실러스 속(*Bacillus sp.*), 클로스트리디움 속(*Clostridium sp.*), 에스케리키아 속 (*Escherichia sp.*), 락토바실러스 속(*Lactobacillus sp.*), 락토코커스 속(*Lactococcus sp.*),

피키아 속(*Pichia sp.*), 슈도모나스 속(*Pseudomonas sp.*), 랄스토니아 속(*Ralstonia sp.*), 로도코쿠스 속(*Rhodococcus sp.*), 사카로마이세스 속(*Saccharomyces sp.*), 스트렙토마이세스 속(*Streptomyces sp.*), 써머스 속(*Thermus sp.*), 써머토가 속(*Thermotoga sp.*), 써모아나에로박터 속(*Thermoanaerobacter sp.*) 및 자이모모나스 속(*Zymomonas sp.*)등을 들 수 있으며, 이들을 단독으로 또는 2종 이상을 조합하여 사용할 수 있다.

- [0049] 상기 클로스트리디움 속은, 구체적으로, 클로스트리디움 베이어린키(*Clostridium beijerinckii*), 클로스트리디움 아세토부티리쿰(*Clostridium acetobutyricum*), 클로스트리디움 부티리쿰(*Clostridium butyricum*), 클로스트리디움 셀룰로리티쿰(*Clostridium cellulolyticum*), 클로스트리디움 써모셀럼(*Clostridium thermocellum*), 클로스트리디움 퍼프린젠스(*Clostridium perfringens*), 클로스트리디움 스포로제네스(*Clostridium sporogenes*), 클로스트리디움 써모하이드로써퓨리쿰(*Clostridium thermohydrosulfuricum*), 클로스트리디움 클루이베리(*Clostridium kluyveri*), 클로스트리디움 애시디톨러런스(*Clostridium aciditolerans*), 클로스트리디움 파스테우리아눔(*Clostridium pasteurianum*), 클로스트리디움 융다히(*Clostridium ljungdahlii*), 클로스트리디움 오토에타노제눔(*Clostridium autoethanogenum*), 클로스트리디움 포미코아세티쿰(*Clostridium formicoacticum*), 클로스트리디움 써모아세티쿰(*Clostridium thermoaceticum*), 클로스트리디움 아세티쿰(*Clostridium aceticum*) 및 클로스트리디움 타이로부티리쿰(*Clostridium tyrobutyricum*)을 들 수 있으며, 이들을 단독으로 또는 2종 이상을 조합하여 사용할 수 있다.
- [0050] 생산되는 유기산 또는 바이오 연료의 종류는 미생물의 종류에 따라 달라질 수 있다. 상기 유기산은 비제한적인 예로, 젖산(lactic acid), 아세트산(acetic acid), 부티르산(butyric acid) 또는 헥사노익산(hexanoic acid)을 들 수 있고, 상기 바이오 연료는 비제한적인 예로, 아세톤(acetone), 에탄올(ethanol) 또는 부탄올(butanol)을 들 수 있다. 상기 바이오 연료는 생산된 유기산을 이용하여 생산할 수 있다.
- [0051] 본 발명은 목질계 바이오매스 전처리액에서 부티르산 발효시 주요 저해물질인 페놀계 화합물들의 독성을 계면활성제를 첨가함으로써 감소시켰다. 이는 기존에 밝혀진 물리 화학적 및 생물학적 제독방법이 가지고 있는 단점인 당 손실을 극복할 수 있다.
- [0052] 본 발명에 의해 처리된 전처리 당화액은 효모, 클로스트리디움, 대장균 등 바이오 알코올을 생산할 수 있는 모든 미생물을 이용한 발효에 적용할 수 있으며 이를 통해 유기산 또는 바이오 연료를 제조할 수 있다.
- [0053] 이하, 본 발명의 실시예를 참조하여 본 발명을 상세히 설명한다. 이들은 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위해 예시적으로 제시한 것일 뿐, 본 발명의 범위가 이 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에 서 통상의 지식을 가지는 자에 있어서 자명할 것이다.
- [0054] [실시예 1] 페놀계 화합물의 종류에 따른 미생물의 성장 결과 및 부탄올 또는 부티르산 생성 농도 측정
- [0055] 본 실시예는 목질계 가수분해물에서 발견되는 페놀계 화합물들의 발효저해 작용을 감소시키기 위해 계면활성제를 사용하였고, 각 페놀계 화합물 및 수용성 리그닌의 독성 평가와 계면활성제 첨가에 따른 해독효과를 측정하였다.
- [0056] 무독화된 당화액은 클로스트리디움 타이로부티리쿰(*Clostridium tyrobutyricum*, 미국 미생물 보존센터(American Type Culture Collection), ATCC 25755), 클로스트리디움 아세토부티리쿰(*Clostridium acetobutyricum*, 미국 미생물 보존센터 (American Type Culture Collection), ATCC 824) 및 클로스트리디움 베이어린키(*Clostridium beijerinckii*, 영국 국립 산업 및 해양 박테리아 은행(The National Collection of Industrial, food and Marine Bacteria), NCIMB 8052)를 용하여 부티르산 및 부탄올 발효의 기질로서 사용하였다.
- [0057] 사용한 계면활성제 트윈 80(Tween 80)은 sigma사의 BioXtra(viscous liquid)를 사용하였다.
- [0058] 각종 발효 저해물질들(inhibitors)인 파라 쿠마르산(p-coumaric acid), 페룰산(ferulic acid), 바닐산(vanilic acid) 및 시링알데하이드(syringaldehyde)를 1g/L씩 첨가하여 클로스트리디움 타이로부티리쿰의 성장 결과를 흡광도(Optical density) 를 측정하였다.
- [0059] 무독화 실험을 위해 페놀계 화합물 파라 쿠마르산(p-coumaric acid), 페룰산(ferulic acid), 시링알데히드(Syringaldehyde), 및 바닐산(vanilic acid)을 선정하였으며, 발효를 진행할 배지에 각각 1g/L씩 첨가하였다.
- [0060] 부티르산 발효는 클로스트리디움 타이로부티리쿰(*Clostridium tyrobutyricum*)을 이용하여 2차 계대 배양한 시료를 이용하여 진행하였고, 부탄올 발효는 클로스트리디움 아세토부티리쿰(*Clostridium acetobutyricum*)과 클로스

트리디움 베이어린키(*Clostridium beijerinckii*)를 이용하여 2차 계대 배양한 시료를 이용하여 진행하였다.

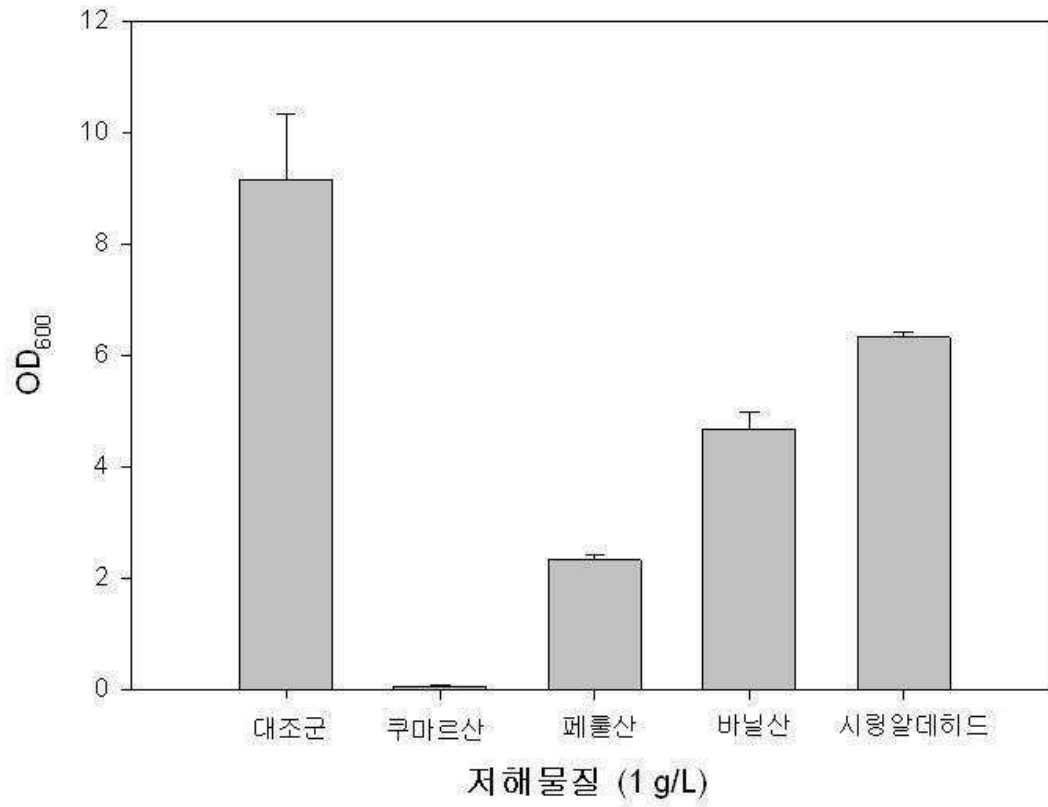
- [0061] 상기 배양액을 회분식 배양기에 접종하여 부티르산 및 부탄올 발효를 진행하였다. 부티르산 발효 배지는 리터당 20 g의 글루코스, 5 g의 효모 추출물, 0.2 g의 황산마그네슘, 0.01 g의 황산망간, 0.01 g의 황산철, 0.01 g의 염화나트륨, 0.5 g의 제1 인산칼륨(KH_2PO_4), 0.5 g의 제2 인산칼륨(K_2HPO_4), 2g의 아세트산암모늄(ammonium acetate)를 포함하였고 부탄올 발효배지는 리터당 20 g의 글루코스, 5 g의 효모 추출물, 0.2 g의 황산마그네슘, 0.01 g의 황산망간, 0.01 g의 황산철, 0.01 g의 염화나트륨, 0.5 g의 제1 인산칼륨(KH_2PO_4), 0.5 g의 제2 인산칼륨(K_2HPO_4), 2g의 아세트산암모늄(ammonium acetate)를 포함한다. 각 배지는 아르곤 가스를 이용하여 기체치환 후 섭씨 121도에서 15분 멸균 후 실험에 사용하였다. 초기 pH는 1 N 수산화칼륨(KOH)으로 6.8으로 조정되었다. 회분식 배양(batch culture)의 경우, 60 mL의 시료병(serum bottle)에 20 mL의 배지를 넣고 배지의 5%에 해당하는 배양액을 접종한 후 진탕 배양기에서 섭씨 37°C의 온도 및 150 rpm의 회전 속도로 배양하였다.
- [0062] 페놀계, 퓨란계 화합물 및 당, 아세트산의 농도는 액체크로마토그래프 (Agilent model 1200 liquid chromatograph)로 분석하였다. 페놀계 화합물은 다이오드어레이 검출기로 분석하였고, Zorbax eclipse XDB-C18 컬럼 (150×4.6 mm, 3.5 μ m)을 사용하였다. 당과 아세트산은 굴절률 검출기로 분석하였고, Aminex HPX-87H 컬럼 (300×7.8 mm)을 사용하였다.
- [0063] 미생물 생장은 분광광도계(UVmini-1240, SHIMAZU)로 600 nm에서의 흡광도를 측정하였다.
- [0064] 부티르산 및 부탄올의 농도는 불꽃 이온화 검출기(flame ionized detector)가 설치된 가스 크로마토그래피 (Agilent technology 6890N Network GC system)로 분석하였으며, HP-INNOWax column(30m×250 μ m×0.25 μ m, Agilent Technologies)을 사용하였다.
- [0065] 가장 좌측의 대조군(control)은 발효저해 물질을 전혀 포함하지 않는 경우이다. 그 결과를 도 1에 나타내었고, 도 1에서 가로축은 각종 발효 저해물질들(inhibitors)을 나타내며, 세로축은 클로스트리디움 타이로부티리쿰의 성장 결과를 흡광도(Optical density) 600nm에서 측정하여 나타내었다.
- [0066] 각 경우의 미생물 성장 결과를 비교할 때, 쿠마르산, 페룰산, 바닐산, 시링알데하이드 순으로 독성을 나타내며, 모든 페놀계 화합물은 클로스트리디움 타이로부티리쿰의 성장에 저해를 주는 것을 알 수 있다.
- [0067] 또한, 부티르산 생성 농도를 측정하여 도 2에 나타내었다. 도 2에서도, 모든 페놀계 화합물이 부티르산 생산을 저해하는 것을 알 수 있다.
- [0068] [실시예 2] 페놀계 화합물의 종류 및 계면활성제 첨가 여부에 따른 미생물의 성장 결과 및, 부티르산 또는 부탄올의 생성 농도 측정
- [0069] 목질계 바이오매스 전처리 과정에서 생성되는 페놀계 화합물들 중 파라 쿠마르산(p-coumaric acid), 페룰산(ferulic acid), 바닐산(vanilic acid), 및 시링알데하이드(syringaldehyde)를 선별하여 독성평가 및 탈독성화 평가를 하였다.
- [0070] 각각의 페놀계 화합물 1g/L씩을 포함한 배지에 클로스트리디움 타이로부티리쿰 ATCC 25755의 성장 및 부티르산 생산을 측정하였다.
- [0071] 사용한 계면활성제 트윈 80(Tween 80)은 sigma사의 BioXtra, viscous liquid를 사용하였다. 실험 방법은 실시예 1에서의 방법과 동일하였다.
- [0072] 각 페놀계 화합물 종류 및 계면활성제 첨가 여부에 따라 클로스트리디움 타이로부티리쿰 ATCC 25755의 성장 결과를 도 3에 나타내었다.
- [0073] 도 3에 도시된 바와 같이, 테스트된 모든 페놀계 화합물들은 클로스트리디움 타이로부티리쿰의 성장에 저해를 주는 것으로 나타났다. 도 3에서 (A)는 페놀계 화합물이 첨가되지 않은 대조군, (B)는 파라 쿠마르산이 첨가된 경우, (C)는 페룰산이 첨가된 경우, (D)는 바닐산이 첨가된 경우 및 (E)는 시링알데하이드가 첨가된 경우에 있어서 각각 계면활성제를 첨가한 경우와 그렇지 않은 경우를 나타낸다. 도 3의 세로축은 미생물 성장을 나타내는 흡광도이다.
- [0074] 페놀계 화합물들 중 파라 쿠마르산(B)이 가장 독성이 크게 나타났으며, 미생물 성장을 99% 저해하였다. 페룰산

(C)은 74%, 바닐산(D)은 48%, 그리고 시링알데히드(E)은 30%씩 각각 미생물 성장을 저해하였다.

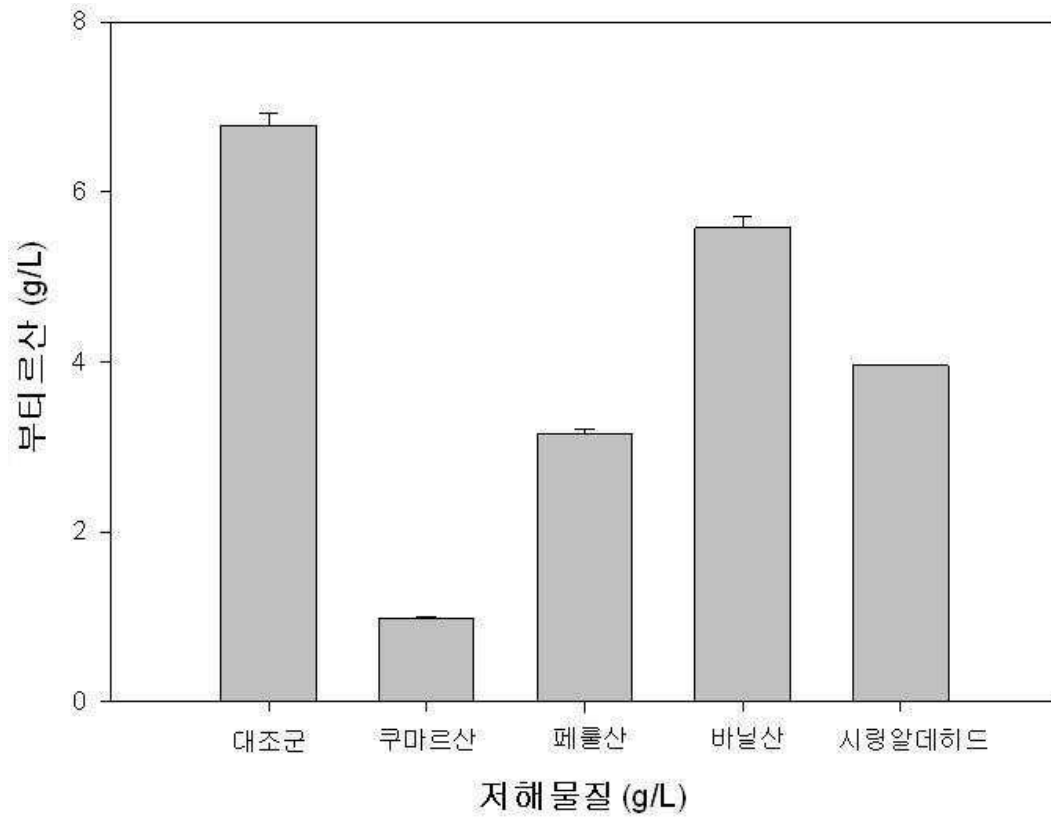
- [0075] 도 4는 각 페놀계 화합물의 종류 및 계면활성제 처리 여부에 따라 클로스트리디움 타이로부티리쿰 ATCC 25755를 이용한 부티르산 생성 농도를 보여주는 그래프이다. 도 4에서 (A)는 페놀계 화합물이 첨가되지 않은 대조군, (B)는 파라 쿠마르산이 첨가된 경우, (C)는 페롤산이 첨가된 경우, (D)는 바닐산이 첨가된 경우 및 (E)는 시링알데하이드가 첨가된 경우에 있어서 각각 계면활성제를 첨가한 경우와 그렇지 않은 경우를 나타낸다.
- [0076] 도 3에 도시된 바와 같이 도 4에서도 페놀계 화합물에 의해 부티르산의 생산이 저해를 받는 것을 볼 수 있다. 계면활성제 첨가한 경우 저해를 더 많이 준 파라 쿠마르산과 페롤산에서 바닐산과 시링알데하이드의 경우보다 더 높은 독성 제거 효과를 보이는 것을 볼 수 있다.
- [0077] 도 5 내지 7은 페놀계 화합물 단량체가 아닌 전처리 시 함유될 수 있는 페놀계 화합물 다량체나 용해된 리그닌에 의한 클리스트리디움 타이로부티리쿰과 클로스트리디움 아세토부티리쿰, 클로스트리디움 베이어린키의 성장 저해 및 계면활성제 첨가로 인한 영향에 대해 나타낸 것이다. 도 5 내지 7에서는 미생물 성장을 나타내는 흡광도와 부티르산이나 부탄올을 생산하는 농도에 있어서, 각각 리그닌이 전혀 첨가되지 않은 대조군, 리그닌이 첨가된 경우에서 계면활성제를 첨가하지 않은 경우 및 리그닌이 첨가된 경우에서 계면활성제를 첨가한 경우의 측정 결과를 나타내었다. 도 5에서 (A)는 클리스트리디움 타이로부티리쿰의 성장을 나타내는 흡광도를 나타낸 것이고, (B)부티르산 생산 농도를 나타낸 것이다. 도 6에서 (A)는 클로스트리디움 아세토부티리쿰의 성장을 나타내는 흡광도를 나타낸 것이고, (B)부탄올 생산 농도를 나타낸 것이다. 도 7에서 (A)는 클로스트리디움 베이어린키의 성장을 나타내는 흡광도를 나타낸 것이고, (B)부탄올 생산 농도를 나타낸 것이다.
- [0078] 도 5 내지 7에서 나타난 바와 같이, 용해된 리그닌은 클로스트리디움 타이로부티리쿰과 클로스트리디움 아세토부티리쿰, 클로스트리디움 베이어린키의 성장과 부티르산 및 부탄올 생산에 대해 저해를 주는 것을 알 수 있고, 계면활성제에 의해 균주의 성장과 부티르산 및 부탄올의 생산농도가 대조군과 유사해지는 것으로 보아 강력한 독성 제거작용을 하는 것을 알 수 있다.
- [0079] 이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

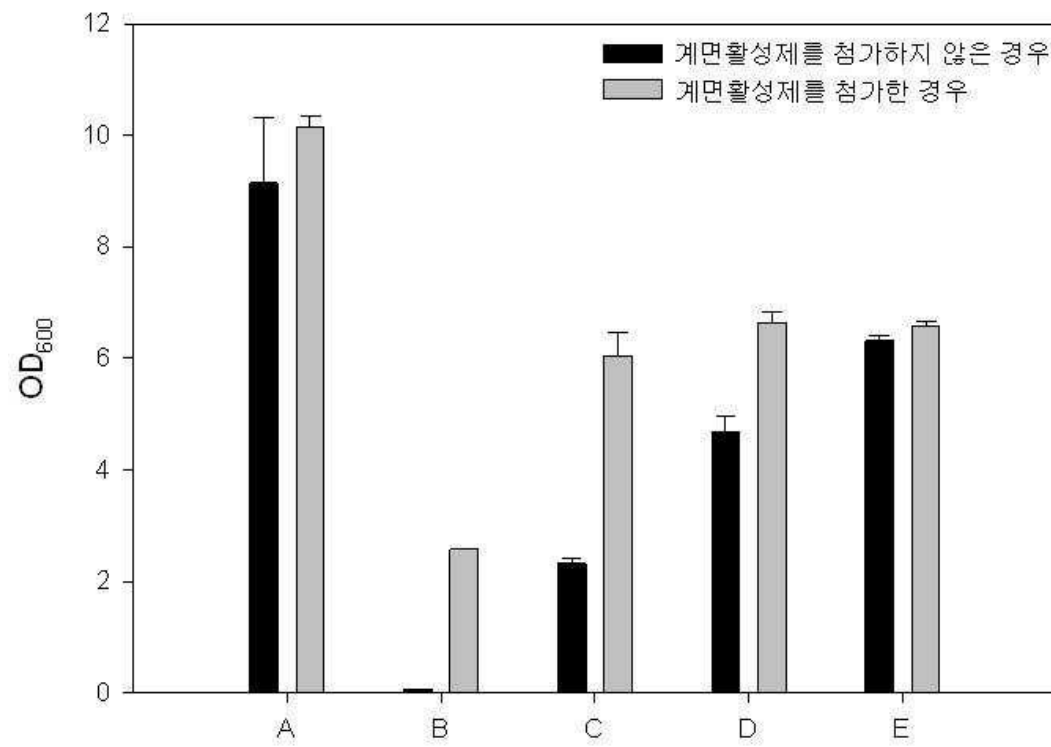
도면1



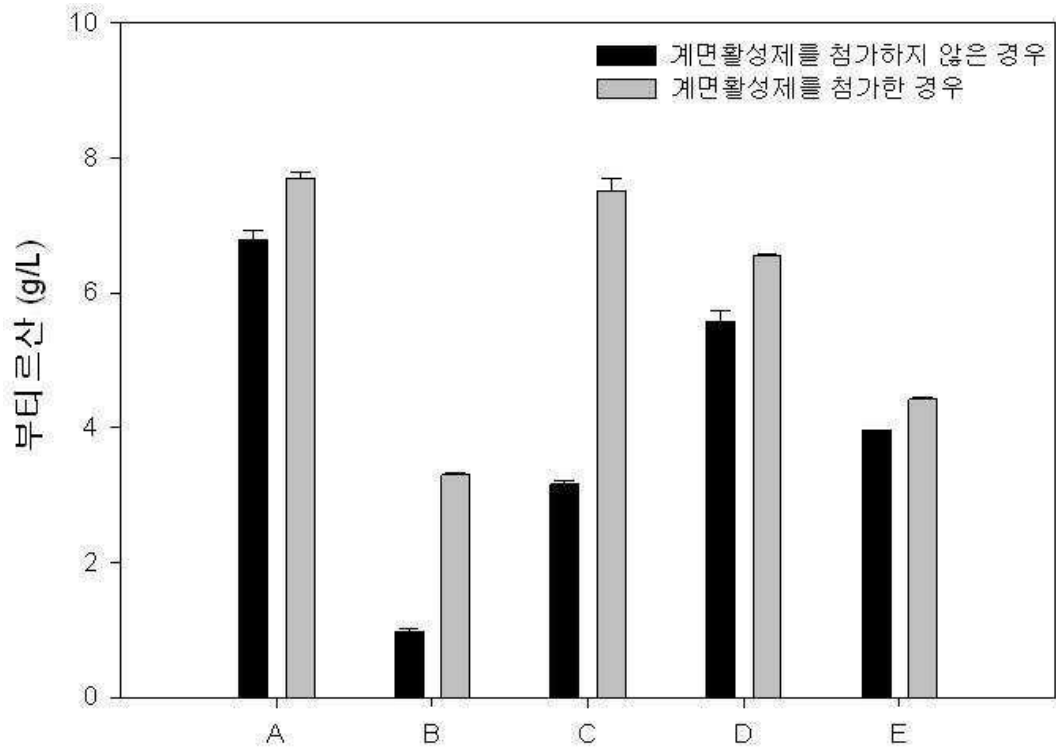
도면2



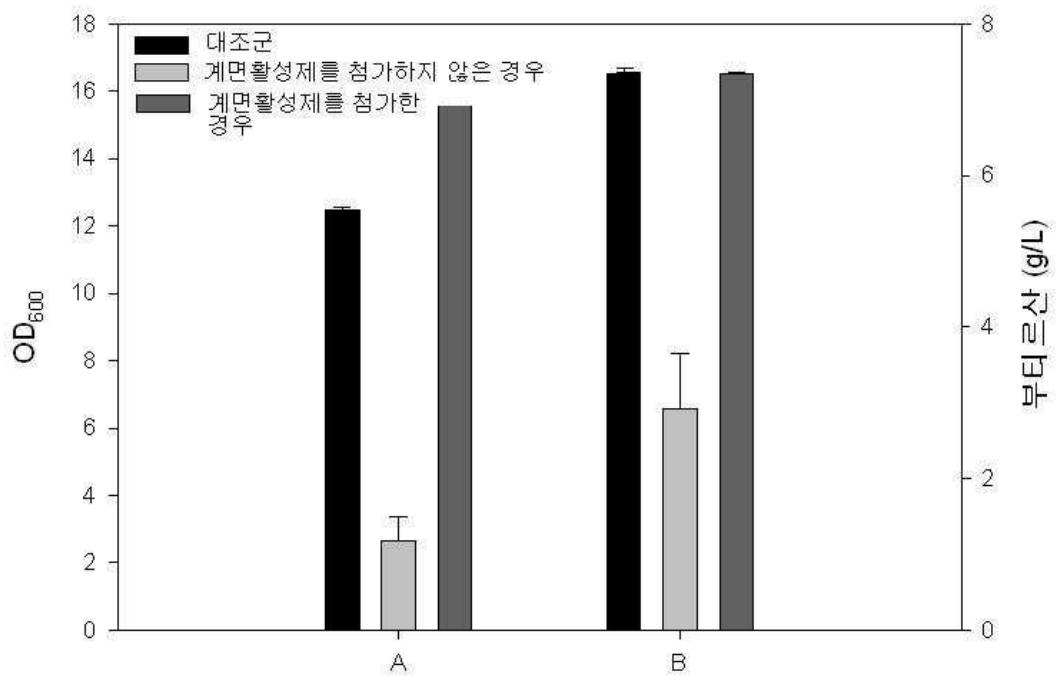
도면3



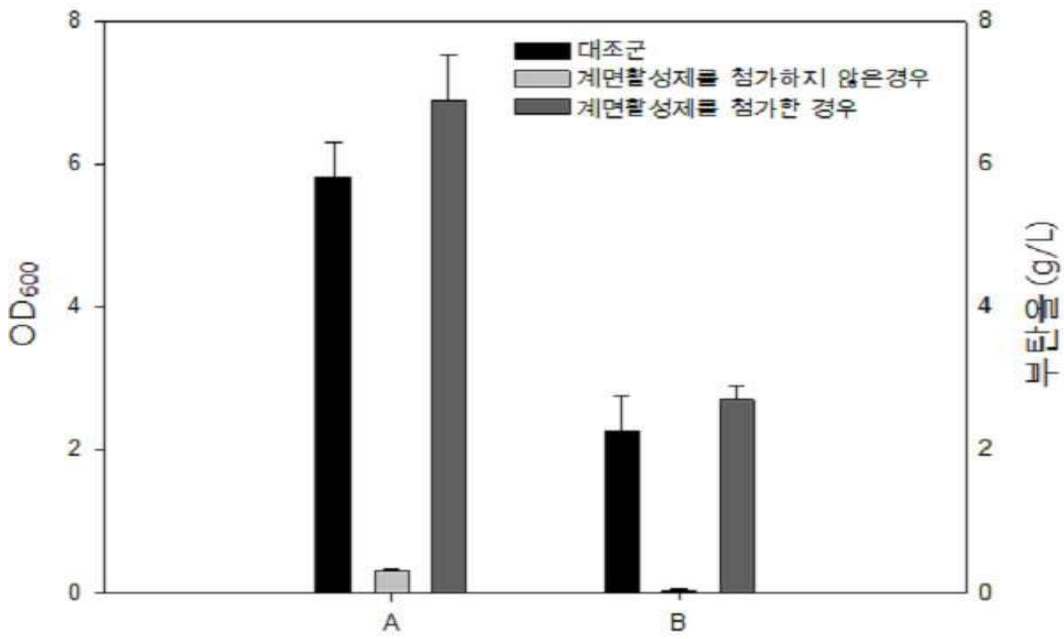
도면4



도면5



도면6



도면7

