



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0116604
(43) 공개일자 2024년07월29일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12P 7/40 (2006.01)

(52) CPC특허분류
C12P 7/40 (2022.01)

(21) 출원번호 10-2023-0008827

(22) 출원일자 2023년01월20일

심사청구일자 2024년01월04일

(71) 출원인
서강대학교산학협력단

서울특별시 마포구 백범로 35 (신수동, 서강대학교)

(72) 발명자

오병근

서울시 마포구 모래내로 9길 3 월드컵아이파크 106-1506

이진원

서울특별시 송파구 양재대로 1218, 201동 1601호 (방이동, 올림픽션수기자촌아파트)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인에스알비

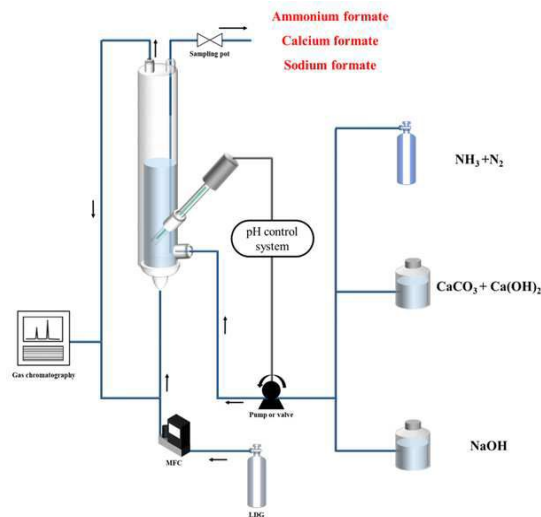
전체 청구항 수 : 총 11 항

(54) 발명의 명칭 일산화탄소를 원료로 CODH/FDH를 이용한 다양한 포름산염을 제조하는 방법

(57) 요약

본 발명은 일산화탄소를 원료로 CODH/FDH를 이용한 다양한 포름산염을 제조하는 방법에 관한 것으로서, 상기 방법에 따르면 포름산(Formic acid)을 포함하고 버퍼를 포함하지 않는(Non-buffered) 반응액에서 pH 적정만을 수행함으로써 버퍼 유래 성분이 포함되지 않은 이온 교환 공정 없이도 암모늄 포름산염(ammonium formate; NH_4COOH), 칼슘 포름산염(calcium formate; $\text{Ca}(\text{COOH})_2$) 및 소듐 포름산염(sodium formate; NaCOOH) 등 원하는 포름산염만을 제조할 수 있으므로, 이를 효과적으로 포름산염의 제조 공정에 이용할 수 있다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

나정걸

서울특별시 서초구 고무래로89, 107동 302호 (반포동, 반포써밋)

조숙형

경기도 고양시 덕양구 화신로 340, 707동 304호 (화정동, 별빛마을7단지아파트)

김태환

서울특별시 은평구 가좌로6길 17, 1층 (응암동)

윤지웅

서울특별시 마포구 승문2길 8-2 (염리동)

이장섭

서울특별시 마포구 백범로 35, 곧자가국제학사 B동 1253호 (신수동, 서강대학교)

신정협

서울특별시 마포구 승문4길 20, 301호 (염리명강빌2차)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711153913
과제번호	202332004
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	C1가스리파이너리사업
연구과제명	C1 가스 전환 기술 공통시험 연구
기 여 율	1/2
과제수행기관명	서강대학교 산학협력단
연구기간	2023.01.01 ~ 2023.12.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1415180675
과제번호	202343001
부처명	산업통상자원부
과제관리(전문)기관명	한국에너지기술평가원
연구사업명	에너지인력양성사업(RCMS)
연구과제명	녹색성장을 위한 CCUS 전문인력양성
기 여 율	1/2
과제수행기관명	서강대학교 산학협력단
연구기간	2023.01.01 ~ 2023.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

포름산(Formic acid)을 포함하고 버퍼를 포함하지 않는(Non-buffered) 반응액에 대하여 NH_3 ; CaCO_3 및 $\text{Ca}(\text{OH})_2$; 및 NaOH로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종의 pH 조절제를 이용하여 pH 적정을 수행하는 pH 적정 단계를 포함하는 포름산염(Formate)의 제조 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 포름산염은 암모늄 포름산염(ammonium formate; NH_4COOH), 칼슘 포름산염(calcium formate; $\text{Ca}(\text{COOH})_2$) 및 소듐 포름산염(sodium formate; NaCOOH)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종인 것인, 제조 방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 pH 적정 단계는 반응액의 pH 값을 6 내지 8로 유지하며 수행되는 것인, 포름산염의 제조 방법.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 pH 적정 단계는 포름산을 0.01 내지 2.00 g/L/hr의 속도로 공급하여 수행되는 것인, 포름산염의 제조 방법.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 pH 적정 단계는 NH_3 를 4 내지 12 mL/min의 속도로 공급하여 수행되는 것인, 포름산염의 제조 방법.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 pH 적정 단계는 CaCO_3 를 1 내지 4 M 투입하여 수행되는 것인, 포름산염의 제조 방법.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 pH 적정 단계는 NaOH를 2 내지 10 M 투입하여 수행되는 것인, 포름산염의 제조 방법.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 제조 방법은 상기 pH 적정 단계에 선행하는 다음 단계를 추가적으로 포함하는 것인, 제조 방법:

버퍼를 포함하지 않는 반응액에서 일산화탄소 탈수소효소(Carbon monoxide dehydrogenase; CODH) 및 포름산 탈수소효소(Formate Dehydrogenase; FDH)를 이용하여 일산화탄소로부터 포름산을 생산하는 생물전환 단계.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 CODH 및 FDH의 비율(unit)은 1:1 내지 5:1인 것인, 제조 방법.

청구항 10

제8항에 있어서, 상기 일산화탄소는 일산화탄소, 이산화탄소 및 질소의 합성 가스로서 공급되는 것인, 제조 방법.

청구항 11

제10항에 있어서, 상기 합성 가스는 일산화탄소, 이산화탄소 및 질소를 25 내지 75:5 내지 30:20 내지 60의 부피비로 포함하는 것인, 제조 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 일산화탄소를 원료로 CODH/FDH를 이용한 다양한 포름산염을 제조하는 방법에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는 포름산(Formic acid)을 포함하고 버퍼를 포함하지 않는(Non-buffered) 반응액을 NH_3 ; CaCO_3 및 Ca(OH)_2 ; 또는 NaOH로 pH 적정함으로써 포름산염을 제조하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 일산화탄소로부터 포름산(Formic acid; HCOOH)을 생산하는 기존의 바이오 공정은 두 개의 반응 단계로 구성되는데, 그 과정은 다음과 같다:

[0003] 1) 일산화탄소 탈수소효소(Carbon monoxide dehydrogenase; CODH)에 의한 CO의 산화와 CO_2 의 생산; 및

[0004] 2) 포름산 탈수소효소(Formate Dehydrogenase; FDH)에 의한 CO_2 의 환원과 포름산(formic acid)의 생산.

[0005] 이렇게 최종 생성되는 포름산은 산성의 물질로, 생물반응기 내의 pH 하락을 야기한다. 이에 따라 안정적인 바이오 공정의 운영을 위해서는 pH 조절이 필수적이고, 이는 보통 NaOH로 대표되는 액체 염기물질을 연동펌프(peristaltic pump)로 주입하는 방식을 통해 수행된다.

[0006] NaOH를 pH 적정에 사용할 경우, 생산되는 포름산염의 형태는 소듐 포름산염(sodium formate; NaCOOH)이고, 해당 바이오 공정에 쓰이는 버퍼(buffer)에 따라 버퍼-포름산염 또한 생산될 수 있다.

[0007] 기존의 포름산염 생산 공정의 경우 생물촉매의 안정성을 위해 버퍼를 사용하며, NaOH를 이용한 전통적인 pH 적정을 진행하기 때문에 생산되는 포름산염의 형태는 소듐 포름산염 및 버퍼-포름산염의 형태를 나타내게 된다. 이로 인해 순수한 조성의 포름산염을 얻을 수 없으며, 또한 생산하는 포름산염의 형태가 소듐 포름산염으로 한정되므로, 다른 형태의 염을 얻기 위해서는 반드시 이온 교환(ion exchange) 과정을 필수적으로 거쳐야만 하는 불편함이 있었다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 이에 본 발명자들은 포름산(Formic acid)을 포함하고 버퍼를 포함하지 않는(Non-buffered) 반응액에 NH_3 ; CaCO_3 및 Ca(OH)_2 ; 또는 NaOH를 이용하여 pH 적정을 수행함으로써 각각 포름산으로부터 암모늄 포름산염(ammonium formate; NH_4COOH), 칼슘 포름산염(calcium formate; Ca(COOH)_2) 및 소듐 포름산염(sodium formate; NaCOOH)에 해당하는 순수한 포름산염(Formate)을 제조할 수 있음을 확인하였다.

[0009] 이에, 본 발명의 목적은 포름산을 포함하고 버퍼를 포함하지 않는 반응액에 대하여 NH_3 ; CaCO_3 및 Ca(OH)_2 ; 및 NaOH로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종의 pH 조절제를 이용하여 pH 적정을 수행하는 pH 적정 단계를 포함하는 포름산염의 제조 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0010] 본 발명은 일산화탄소를 원료로 CODH/FDH를 이용한 다양한 포름산염을 제조하는 방법에 관한 것으로, 본 발명에 따른 포름산염의 제조 방법은 포름산(Formic acid)을 포함하고 버퍼를 포함하지 않는(Non-buffered) 반응액을 NH_3 ; CaCO_3 및 Ca(OH)_2 ; 또는 NaOH로 pH 적정함으로써 각각 포름산으로부터 암모늄 포름산염(ammonium formate; NH_4COOH), 칼슘 포름산염(calcium formate; Ca(COOH)_2) 및 소듐 포름산염(sodium formate; NaCOOH)에 해당하는 순수한 포름산염을 제조할 수 있음을 나타낸다.

[0011] 이하 본 발명을 더욱 자세히 설명하고자 한다.

- [0012] 본 발명의 일 양태는 포름산을 포함하고 버퍼를 포함하지 않는 반응액에 대하여 NH_3 ; CaCO_3 및 $\text{Ca}(\text{OH})_2$; 및 NaOH 로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종의 pH 조절제를 이용하여 pH 적정을 수행하는 pH 적정 단계를 포함하는 포름산염의 제조 방법이다.
- [0013] 본 발명에 있어서 상기 포름산염은 암모늄 포름산염, 칼슘 포름산염 및 소듐 포름산염으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종인 것일 수 있다.
- [0014] 본 발명에 있어서 상기 pH 적정 단계는 반응액의 pH 값을 6.0 내지 8.0으로 유지하며 수행되는 것일 수 있고, 바람직하게는 pH 값을 6.0 내지 7.5, 6.0 내지 7.0, 6.0 내지 6.8, 6.2 내지 8.0, 6.2 내지 7.5, 또는 6.2 내지 7.0으로 유지하며 수행되는 것일 수 있고, 예를 들어, 6.2 내지 6.8로 유지하며 수행되는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0015] 본 발명에 있어서 상기 pH 적정 단계는 포름산을 0.01 내지 2.00 g/L/hr의 속도로 공급하여 수행되는 것일 수 있고, 바람직하게는 0.01 내지 1.50 g/L/hr, 0.01 내지 1.00 g/L/hr, 0.01 내지 0.80 g/L/hr, 0.01 내지 0.50 g/L/hr, 0.10 내지 2.00 g/L/hr, 0.10 내지 1.50 g/L/hr, 0.10 내지 1.00 g/L/hr, 또는 0.10 내지 0.80 g/L/hr의 속도로 공급하여 수행되는 것일 수 있고, 예를 들어, 0.10 내지 0.50 g/L/hr의 속도로 공급하여 수행되는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0016] 본 발명에 있어서 상기 pH 적정 단계는 NH_3 를 4 내지 12 mL/min의 속도로 공급하여 수행되는 것일 수 있고, 바람직하게는 4 내지 10 mL/min, 4 내지 8 mL/min, 6 내지 12 mL/min, 6 내지 10 mL/min, 6 내지 8 mL/min, 7 내지 12 mL/min, 또는 7 내지 10 mL/min의 속도로 공급하여 수행되는 것일 수 있고, 예를 들어, 7 내지 8 mL/min의 속도로 공급하여 수행되는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0017] 본 발명에 있어서 상기 pH 적정 단계는 CaCO_3 를 1.0 내지 4.0 M 투입하여 수행되는 것일 수 있고, 바람직하게는 1.0 내지 3.5 M, 1.0 내지 3.0 M, 1.0 내지 2.5 M, 1.0 내지 2.0 M, 1.5 내지 4.0 M, 1.5 내지 3.5 M, 1.5 내지 3.0 M, 1.5 내지 2.5 M, 1.5 내지 2.0 M, 2.0 내지 4.0 M, 2.0 내지 3.5 M, 또는 2.0 내지 3.0 M 투입하여 수행되는 것일 수 있고, 예를 들어, 2.0 내지 2.5 M 투입하여 수행되는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0018] 상기 CaCO_3 를 이용하여 pH 적정을 수행하는 경우, 0.5 내지 10.0 M의 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 를 추가적으로 주입하여 수행될 수 있고, 바람직하게는 0.5 내지 8.0 M, 0.5 내지 6.0 M, 0.5 내지 5.0 M, 1.0 내지 10.0 M, 1.0 내지 8.0 M, 또는 1.0 내지 6.0 M의 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 를 추가적으로 주입하여 수행될 수 있고, 예를 들어, 1.0 내지 5.0 M의 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 를 추가적으로 주입하여 수행될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 를 추가적으로 주입함에 따라 포름산의 농도가 높아질 경우에 반응 속도가 느려지는 것을 보완할 수 있으므로, 목표 pH 값 범위로의 적정에 용이하다.
- [0019] 본 발명에 있어서 상기 pH 적정 단계는 NaOH 를 2 내지 10 M 투입하여 수행되는 것일 수 있고, 바람직하게는 2 내지 8 M, 2 내지 6 M, 2 내지 5 M, 4 내지 10 M, 4 내지 8 M, 4 내지 6 M, 4 내지 5 M, 5 내지 10 M, 또는 5 내지 8 M 투입하여 수행되는 것일 수 있고, 예를 들어, 5 내지 6 M 투입하여 수행되는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0020] 본 발명에 있어서 상기 제조 방법은 상기 pH 적정 단계에 선행하는 다음 단계를 추가적으로 포함하는 제조 방법인 것일 수 있다:
- [0021] 버퍼를 포함하지 않는 반응액에서 일산화탄소 탈수소효소(Carbon monoxide dehydrogenase; CODH) 및 포름산 탈수소효소(Formate Dehydrogenase; FDH)를 이용하여 일산화탄소로부터 포름산을 생산하는 생물전환 단계.
- [0022] 상기 CODH 및 FDH의 비율(unit)은 1:1 내지 5:1인 것일 수 있고, 바람직하게는 1:1 내지 4:1, 1:1 내지 3:1, 1:1 내지 2:1, 2:1 내지 5:1, 또는 2:1 내지 4:1인 것일 수 있고, 예를 들어, 2:1 내지 3:1인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0023] 상기 일산화탄소는 일산화탄소, 이산화탄소 및 질소의 합성 가스로서 공급되는 것일 수 있다.
- [0024] 상기 합성 가스는 일산화탄소, 이산화탄소 및 질소를 25 내지 75:5 내지 30:20 내지 60의 부피비로 포함하는 것일 수 있고, 바람직하게는 40 내지 60:10 내지 20:30 내지 40의 부피비로 포함하는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

- [0025] 본 발명의 일 구현예에서, 포름산염의 제조 방법은 다음 단계에 따라 수행되는 것일 수 있다:
- [0026] 버퍼를 포함하지 않는 반응액에서 일산화탄소 탈수소효소(CODH) 및 포름산 탈수소효소(FDH)를 이용하여 일산화탄소로부터 포름산을 생산하는 생물전환 단계; 및
- [0027] 상기 생물전환 단계에서 생산된, 포름산을 포함하고 버퍼를 포함하지 않는 반응액에 대하여 NH_3 ; CaCO_3 및 Ca(OH)_2 ; 및 NaOH 로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종의 pH 조절제를 이용하여 pH 적정을 수행하는 pH 적정 단계.
- [0028] 상기 CODH는 CODH를 발현하는 미생물을 이용하여 수행되는 것일 수 있고, 예를 들어, 상기 CODH를 발현하는 미생물은 대장균(*Escherichia coli*; *E.coli*)인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0029] 상기 CODH를 발현하는 미생물은 하기와 같이 제조되었다:
- [0030] 구체적으로, 산소 내성 CO 탈수소효소의 유전자 변이 주형(template)으로 이용하기 위해 카복시도써머스 하이드로게노포만스 (*Carboxydotherrnus hydrogenoformans*; *C.hydrogenoformans*)(GenBank no. NC_007503) 유래 ChCODH-2 및 ChCODH-4 단백질을 코딩하는 유전자를 GenScript사(Piscataway, NJ, USA)를 통해 인위적으로 합성하였다.
- [0031] 상기 합성된 *C.hydrogenoformans* 유래 ChCODH-2 혹은 ChCODH-4 유전자는 NdeI/BamHI 혹은 NdeI/XhoI의 제한효소들(New England BioLabs Inc., US)로 37℃, 20분간 절단한 후, SolGent™ T4 DNA Ligase를 이용하여 발현용 벡터 pET-28에 클로닝하였다. 상기 CO 탈수소효소 유전자를 함유하는 벡터를 대장균 BL21에 열충격(heat chock, 42℃, 1분)도입하여 야생형 CO 탈수소효소를 함유하는 재조합 미생물을 제조하였다.
- [0032] 상기 FDH는 FDH를 발현하는 미생물을 이용하여 수행되는 것일 수 있고, 바람직하게는 상기 FDH를 발현하는 미생물은 메틸로박테리움(*Methylobacterium*) 속 또는 메틸로박테리움 엑스토르쿠엔스(*Methylobacterium extorquens*; *M.extorquens*)인 것일 수 있고, 예를 들어, 수탁번호 KCTC 13388BP로 기탁된 메틸로박테리움 엑스토르쿠엔스 AM1인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0033] 메틸로박테리움 엑스토르쿠엔스 AM1 균주는 하기와 같이 제조되었다:
- [0034] 먼저 결실시키고자 하는 유전자에 따라 메틸로박테리움 엑스토르쿠엔스 AM1의 FDH1 α , 및/또는 FDH1 β 유전자(GenBank accession No. ACS42636.1(α -subunit), ACS42635.1(β -subunit))의 앞부분과 뒷부분에 위치한 DNA를 증폭시켰다.
- [0035] 상기 증폭된 DNA를 pC184(Addgene plasmid 46012)의 loxP 및 카나마이신 유전자의 양측에 삽입하여 클로닝하였다. 상기 클로닝된 pC184를 메틸로박테리움 엑스토르쿠엔스 AM1에 형질전환시켰다. 메틸로박테리움 엑스토르쿠엔스 AM1은 pC184로 형질전환되었을 때, 대립 유전자 교환을 일으켜 loxP와 카나마이신 유전자를 획득하지만 FDH1의 유전자 서열을 부분적으로 상실하게 된다.
- [0036] 상기 메틸로박테리움 엑스토르쿠엔스 AM1에 pCM157(Addgene plasmid 45863)을 형질전환시키고, pCM157에서 발현된 cre 재조합 효소에 의해서 loxP 부위 사이의 카나마이신 유전자를 부위 특이적 재조합(site-specific recombination)으로 추출하여 녹-아웃된 미생물을 생산하였다.
- [0037] 이후 필요에 따라, 상기 녹-아웃된 미생물에 재조합 플라스미드를 발현시켰다. 구체적으로, 상기 특정 유전자가 녹-아웃된 메틸로박테리움 엑스토르쿠엔스 AM1에 FDH1을 코딩하는 유전자 또는 FDH1 α 를 코딩하는 유전자를 포함하는 pCM110으로 형질전환시켜 FDH1 또는 FDH1 α 의 발현을 다시 회복시켰다.

발명의 효과

- [0038] 본 발명은 일산화탄소를 원료로 CODH/FDH를 이용한 다양한 포름산염을 제조하는 방법에 관한 것으로서, 상기 방법에 따르면 포름산(Formic acid)을 포함하고 버퍼를 포함하지 않는(Non-buffered) 반응액에서 pH 적정만을 수행함으로써 버퍼 유래 성분이 포함되지 않은 이온 교환 공정 없이도 암모늄 포름산염(ammonium formate; NH_4COOH), 칼슘 포름산염(calcium formate; Ca(COOH)_2) 및 소듐 포름산염(sodium formate; NaCOOH) 등 원하는 포름산염만을 제조할 수 있으므로, 이를 효과적으로 포름산염의 제조 공정에 이용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0039] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따라 pH 적정을 통하여 포름산(Formic acid)으로부터 포름산염(Formate)을 제조하기 위한 반응기의 모식도이다.
- 도 2a는 본 발명의 일 실시예에 따라 pH 적정을 통하여 포름산으로부터 암모늄 포름산염(ammonium formate)을 제조하기 위한 NH_3 공급 시스템의 모식도이다.
- 도 2b는 본 발명의 일 실시예에 따라 pH 적정을 통하여 포름산으로부터 암모늄 포름산염을 제조하기 위한 반응기의 모식도이다.
- 도 2c는 본 발명의 일 실시예에 따라 NH_3 를 이용한 pH 적정 결과를 나타낸 그래프이다.
- 도 2d는 CaCO_3 를 이용한 pH 적정 과정을 나타낸 모식도이다.
- 도 2e는 본 발명의 일 실시예에 따라 $\text{CaCO}_3 + \text{Ca(OH)}_2$ 를 이용한 pH 적정 결과를 나타낸 그래프이다.
- 도 2f는 본 발명의 일 실시예에 따라 NaOH를 이용한 pH 적정 결과를 나타낸 그래프이다.
- 도 3a는 본 발명의 일 실시예에 따라 포름산을 10 g/L/hr의 속도로 공급한 pH 적정 결과를 나타낸 그래프이다.
- 도 3b는 본 발명의 일 실시예에 따라 포름산을 3 g/L/hr의 속도로 공급한 pH 적정 결과를 나타낸 그래프이다.
- 도 3c는 본 발명의 일 실시예에 따라 포름산을 0.5 g/L/hr의 속도로 공급한 pH 적정 결과를 나타낸 그래프이다.
- 도 3d는 본 발명의 일 실시예에 따라 포름산을 0.1 g/L/hr의 속도로 공급한 pH 적정 결과를 나타낸 그래프이다.
- 도 4a는 본 발명의 일 실시예에 따라 NH_3 로 pH 적정하여 제조된 암모늄 포름산염의 생산 곡선 그래프이다.
- 도 4b는 본 발명의 일 실시예에 따라 $\text{CaCO}_3 + \text{Ca(OH)}_2$ 로 pH 적정하여 제조된 칼슘 포름산염(calcium formate)의 생산 곡선 그래프이다.
- 도 4c는 본 발명의 일 실시예에 따라 NaOH로 pH 적정하여 제조된 소듐 포름산염(sodium formate)의 생산 곡선 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0040] 이하, 본 발명을 하기의 실시예에 의하여 더욱 상세히 설명한다. 그러나 이들 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐이며, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의하여 한정되는 것은 아니다.
- [0041] 본 명세서 전체에 걸쳐, 특정 물질의 농도를 나타내기 위하여 사용되는 "%"는 별도의 언급이 없는 경우, 고체/고체는 (중량/중량)%, 고체/액체는 (중량/부피)%, 그리고 액체/액체는 (부피/부피)%이다.
- [0043] **실시예 1: NH_3 , $\text{CaCO}_3 + \text{Ca(OH)}_2$, 및 NaOH에 의한 pH 조절**
- [0044] 포름산(Formic acid)이 생성된 조건으로부터 각각의 pH 조절제를 사용하여 pH 적정을 수행함에 따라 생성되는 포름산염(Formate) 및 pH 적정 양상을 확인하였다.
- [0046] **1-1. NH_3**
- [0047] 반응기 내부의 온도를 30℃로 조건화하고, 물(Distilled water) 200 mL에 합성가스(Syngas, CO_2 15%, N_2 bal.)를 1 vvm으로, 포름산을 4 g/L/hr의 속도로 공급하였다.
- [0048] 도 2a 및 2b에서의 주입시스템에 따라, NH_3 는 주입관 내부에 채운 후 N_2 가스를 통해 밀어 넣는 방식으로 7.5 mL/min(총 100 mM/hr)을 주입하였다. 시간의 경과에 따라 pH 값의 변화를 도 2c에 기록한 결과, pH 값이 6.50 이내에서 유지되는 것을 확인하였다.

- [0050] 1-2. $\text{CaCO}_3 + \text{Ca(OH)}_2$
- [0051] 상기 실시예 1-1과 동일하게 수행하되, NH_3 대신 CaCO_3 고체 20 wt%(2 M)를 pH 조절제로 사용하기 위하여 반응기 내에 투입하였다.
- [0052] 도 2d에서 확인할 수 있듯이, CaCO_3 고체는 포름산염이 생산되어 pH가 감소함에 따라 서서히 용해되며 OH^- 기를 배출하였으나, 반응 속도가 느려 포름산의 생산 속도가 증가함에 따라 포름산의 농도가 높아질 경우 적정 pH를 유지하기 어려운 것을 확인하였다.
- [0053] 이에 글리세롤(Glycerol) 50% 용액을 기반으로 만들어진 1 M 또는 5 M의 액상의 Ca(OH)_2 를 추가로 투입하는 방식을 적용한 결과, 도 2e에서 확인할 수 있듯이, 1 M의 Ca(OH)_2 를 투입한 경우 pH 값이 6.45 내지 6.50 이내에서 유지되는 것을 확인하였다.
- [0055] 1-3. NaOH
- [0056] 상기 실시예 1-1과 동일하게 수행하되, NH_3 대신 NaOH 5 M을 pH 조절제로 사용하기 위하여 반응기 내에 투입하였다.
- [0057] 도 2f에서 확인할 수 있듯이, pH 값이 6.45 이내에서 유지되는 것을 확인하였다.
- [0059] 실시예 2: 포름산의 최적 주입량 탐색
- [0060] 포름산염을 생산하기 위한 포름산의 최적 반응기 내부의 온도를 30°C 로 조건화하고, 증류수(Distilled water) 200 mL에 N_2 를 1 vvm으로 공급하고, 포름산은 0.1, 0.5, 3 및 10 g/L/hr의 속도로 공급하였다. 이에 CaCO_3 고체 20 wt%(2 M) 및 상기 실시예 1-2에서 사용된 액상 Ca(OH)_2 를 pH 조절제로 사용함으로써 pH 적정을 수행하였다.
- [0061] 도 3a 내지 3d에서 확인할 수 있듯이, CaCO_3 에 의한 포름산 적정의 최적 조건은 0.1 내지 0.5 g/L/hr인 것으로 나타났다.
- [0063] 실시예 3: 배치(batch) 생산 공정의 수행
- [0064] 디티오트레이톨(Dithiothreitol; DTT) 2 mM, 에틸 비올로겐(ethyl viologen) 10 mM, 및 복합효소로서의 CODH/FDH 고정화 효소(Ni-NTA-agarose immobilized CODH and FDH) 400/200 유닛(unit)을 포함하는 증류수를 총 부피 100 mL로 준비하고, 합성 가스($\text{CO}:\text{CO}_2:\text{N}_2=50:15:35$)를 3 vvm으로 공급하였다.
- [0065] NH_3 를 이용한 pH 적정은 상기 실시예 1-1에서와 동일한 방법으로 7.5 mL/min의 속도로 주입하여 수행되었고, pH 값이 6.45에서 유지되는 것을 확인하였다.
- [0066] $\text{CaCO}_3 + \text{Ca(OH)}_2$ 를 이용한 pH 적정은 상기 실시예 1-2에서와 동일한 방법으로 CaCO_3 고체 20 wt%(2 M) 및 액상의 Ca(OH)_2 를 주입하여 수행되었고, pH 값이 6.40에서 유지되는 것을 확인하였다.
- [0067] NaOH를 이용한 pH 적정은 상기 실시예 1-3에서와 동일한 방법으로 NaOH 5 M을 주입하여 수행되었고, pH 값이 6.45에서 유지되는 것을 확인하였다.

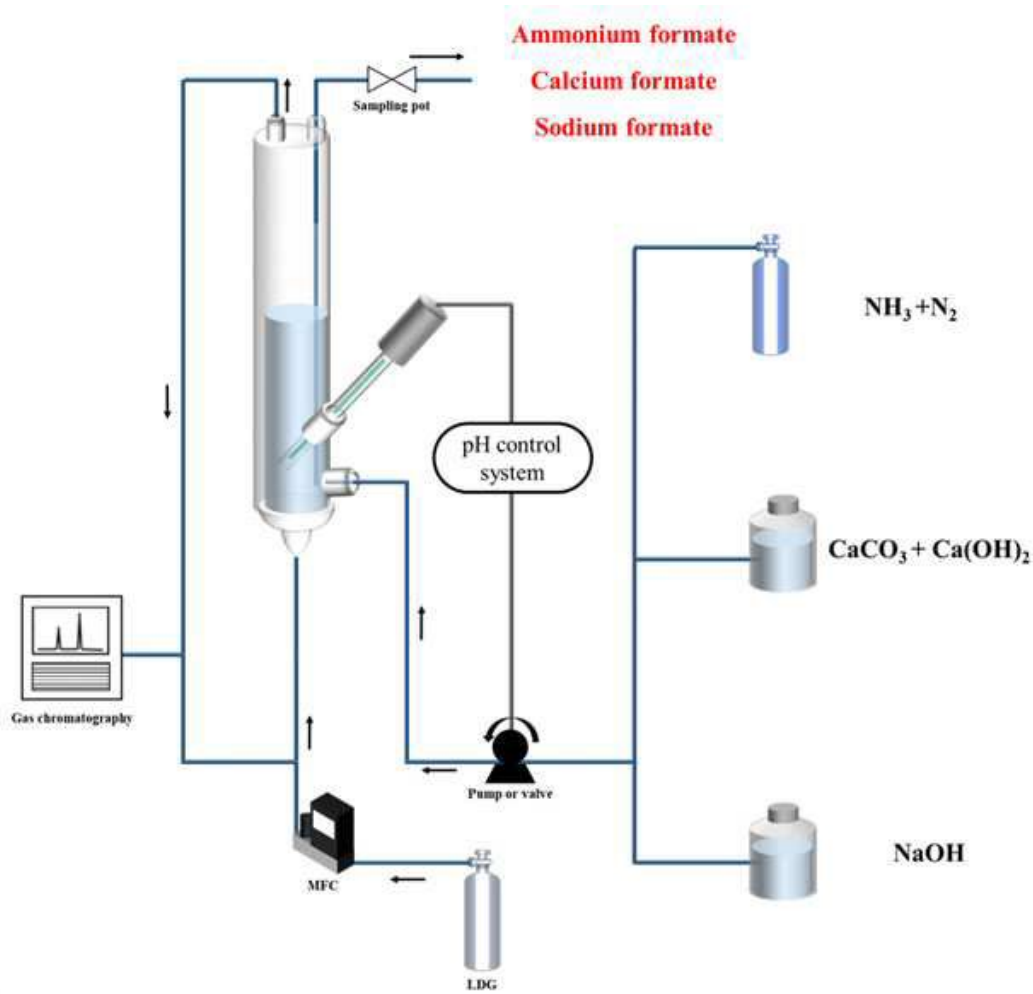
표 1

pH control	Max. Vol. productivity (mM/hr)	Titer (mM)
NH_3	18.08	357
$\text{CaCO}_3+\text{CaOH}_2$	17.49	178(18 h)
NaOH	18.07	327

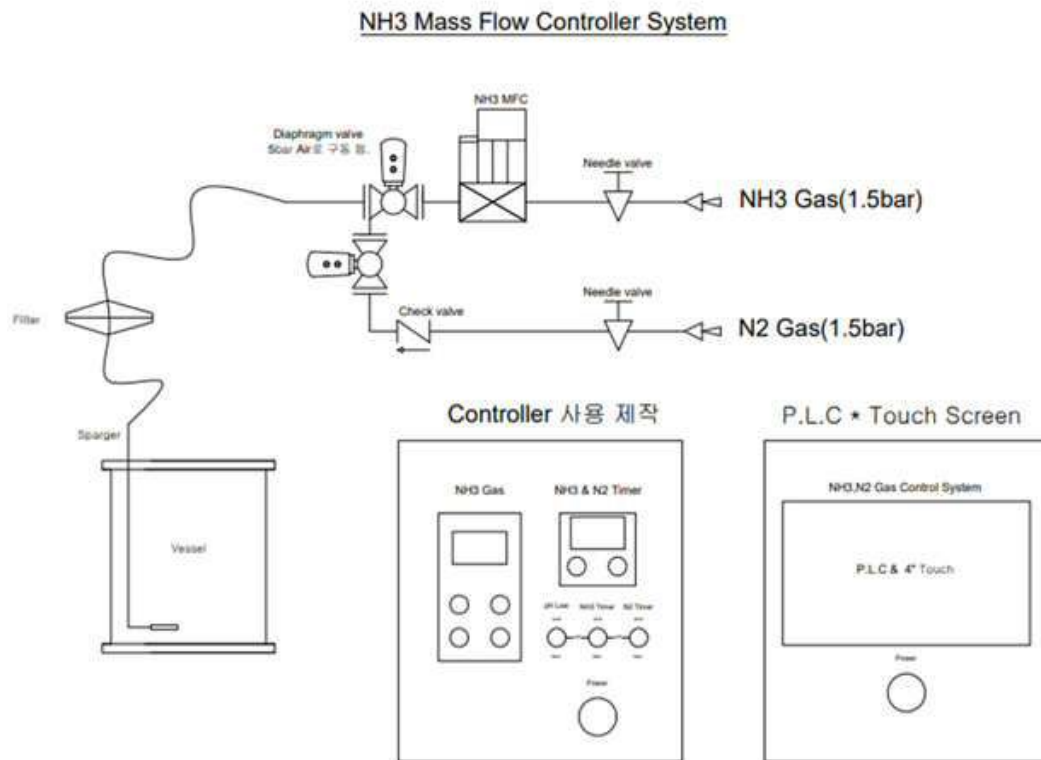
[0069] 상기 표 1, 도 4a 내지 4c에서 확인할 수 있듯이, NH_3 를 이용한 pH 적정으로부터 생산된 암모늄 포름산염(ammonium formate; NH_4COOH)은 357 mM, $\text{CaCO}_3 + \text{Ca}(\text{OH})_2$ 를 이용한 pH 적정으로부터 생산된 칼슘 포름산염(calcium formate; $\text{Ca}(\text{COOH})_2$)은 178 mM(18 h), NaOH를 이용한 pH 적정으로부터 생산된 소듐 포름산염(sodium formate; NaCOOH)은 327 mM인 것으로 나타났다.

도면

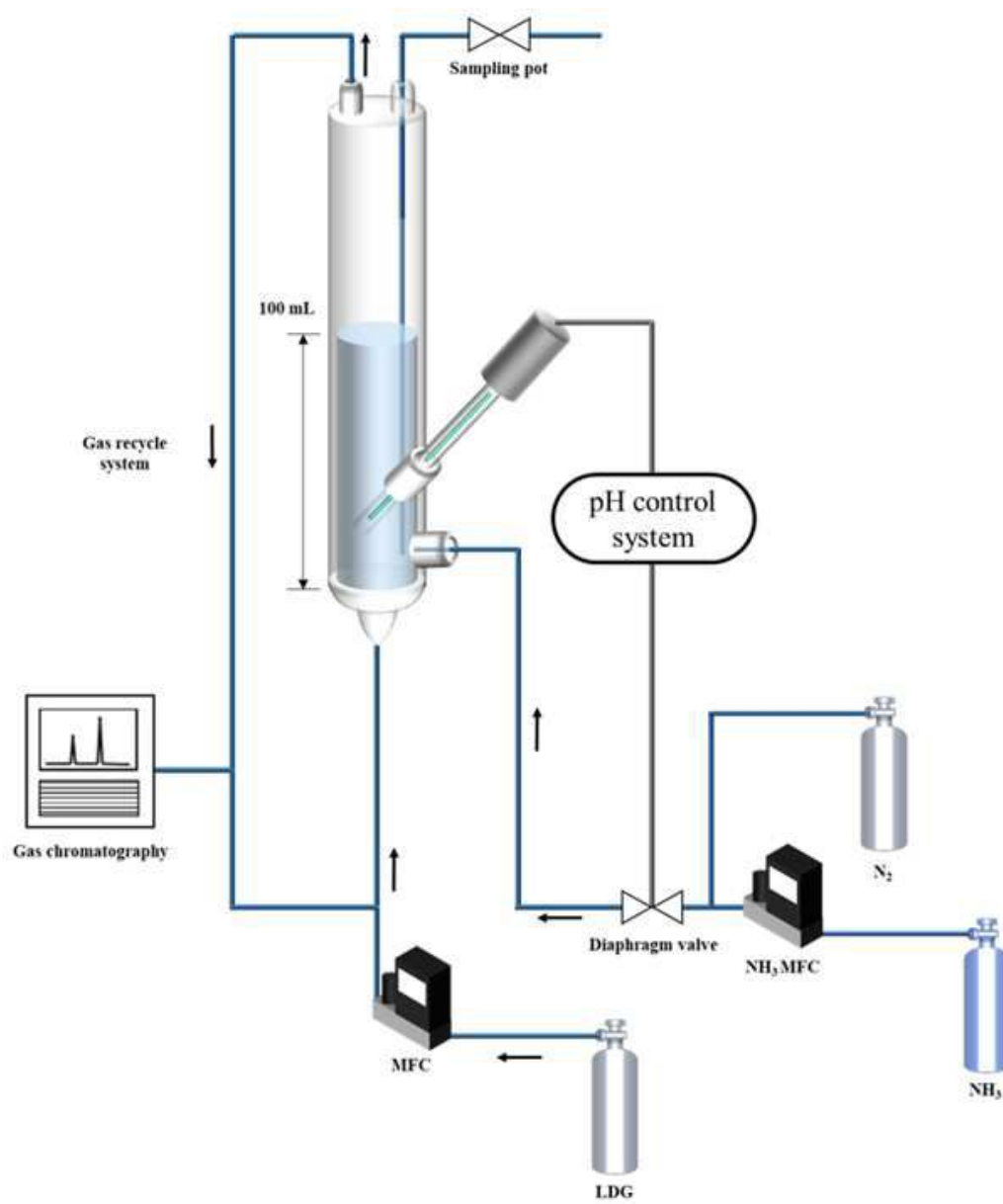
도면1



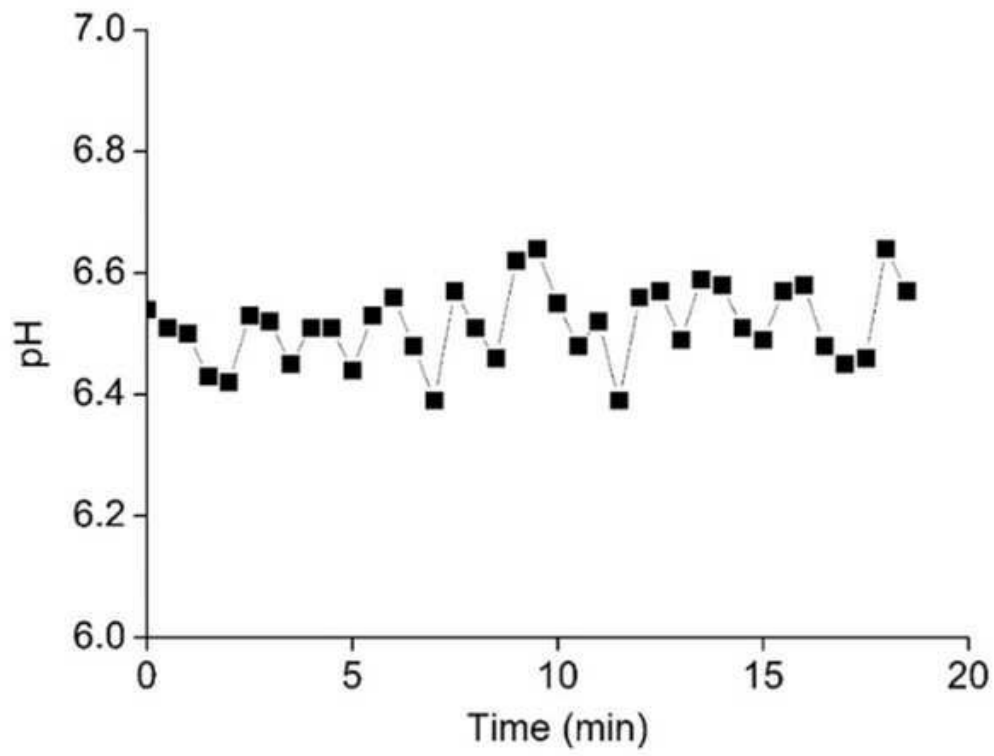
도면2a



도면2b

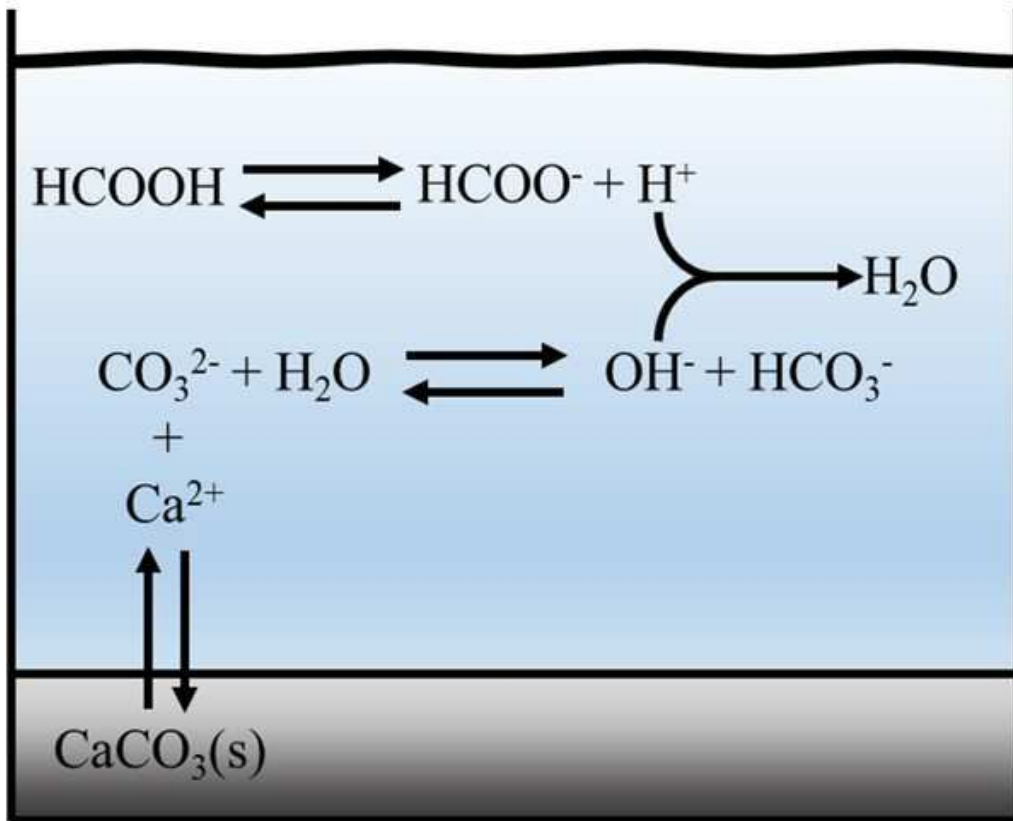


도면2c

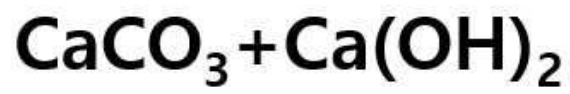
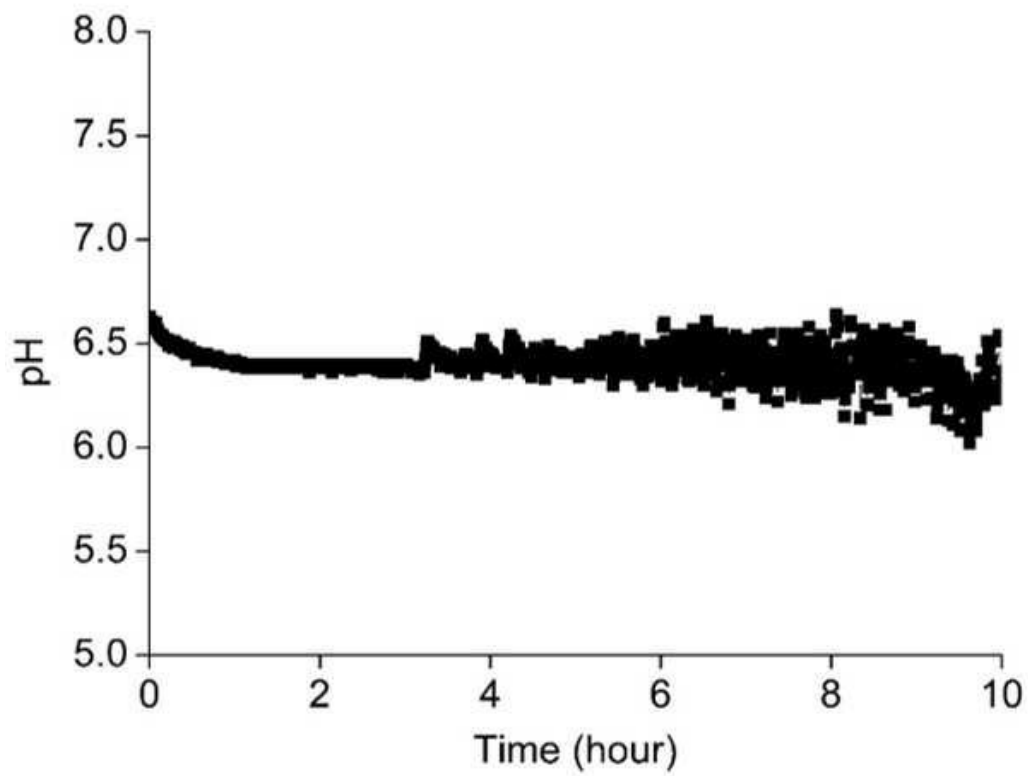


NH_3

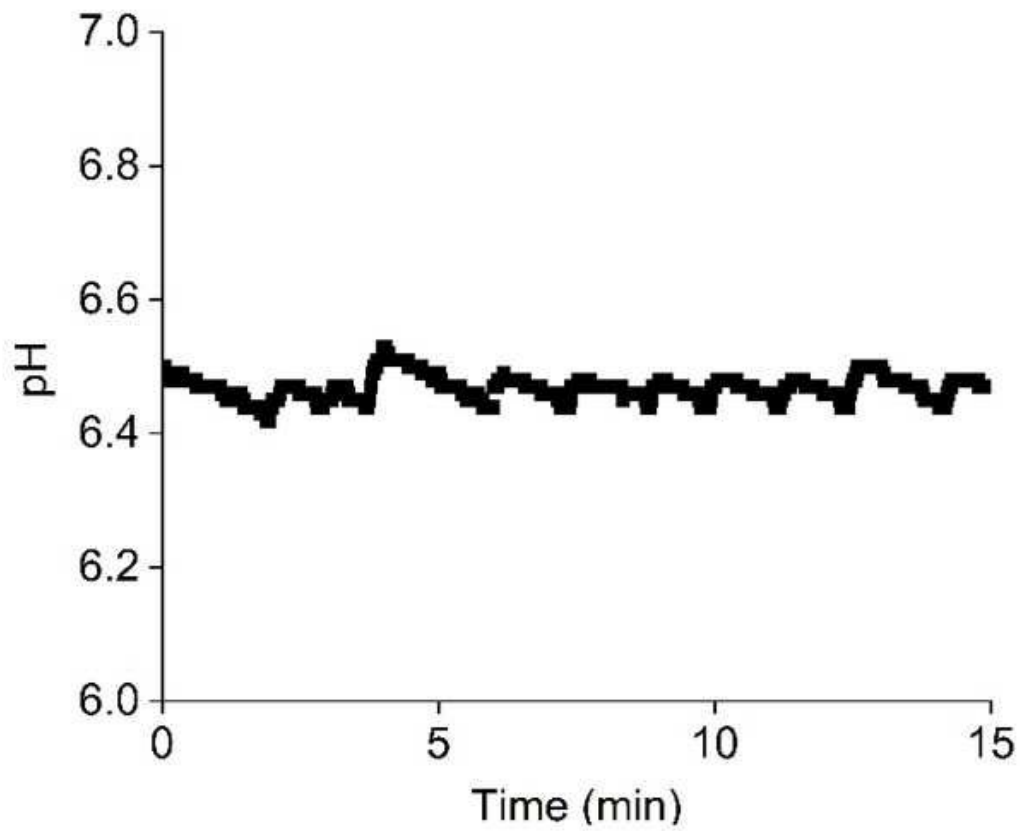
도면2d



도면2e

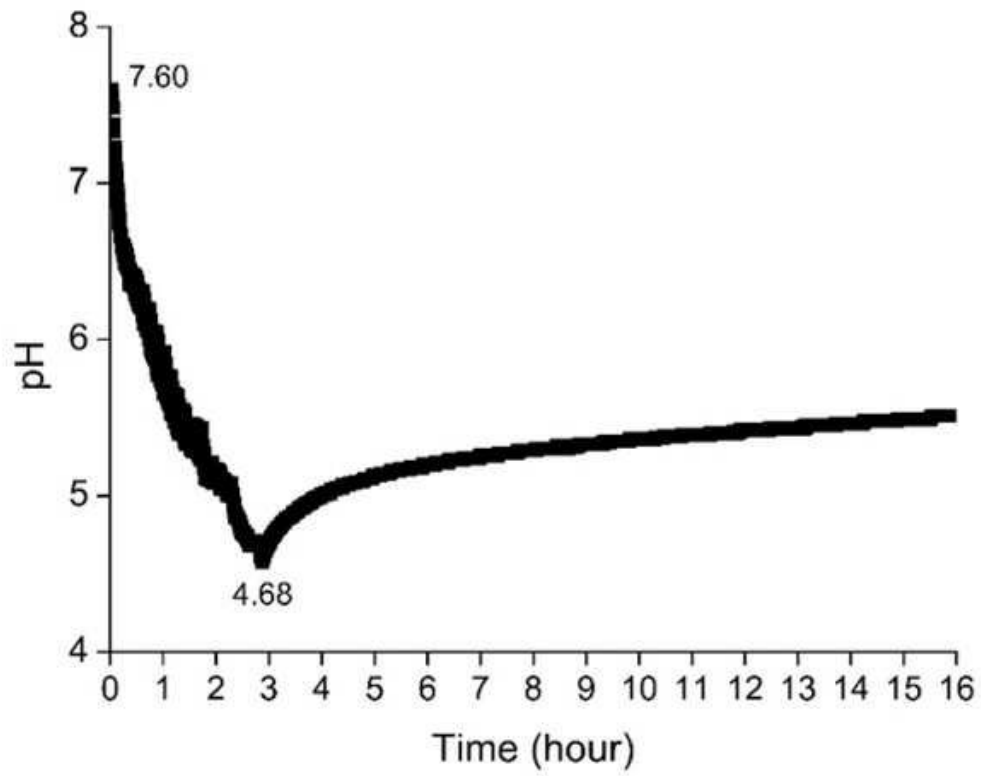


도면2f

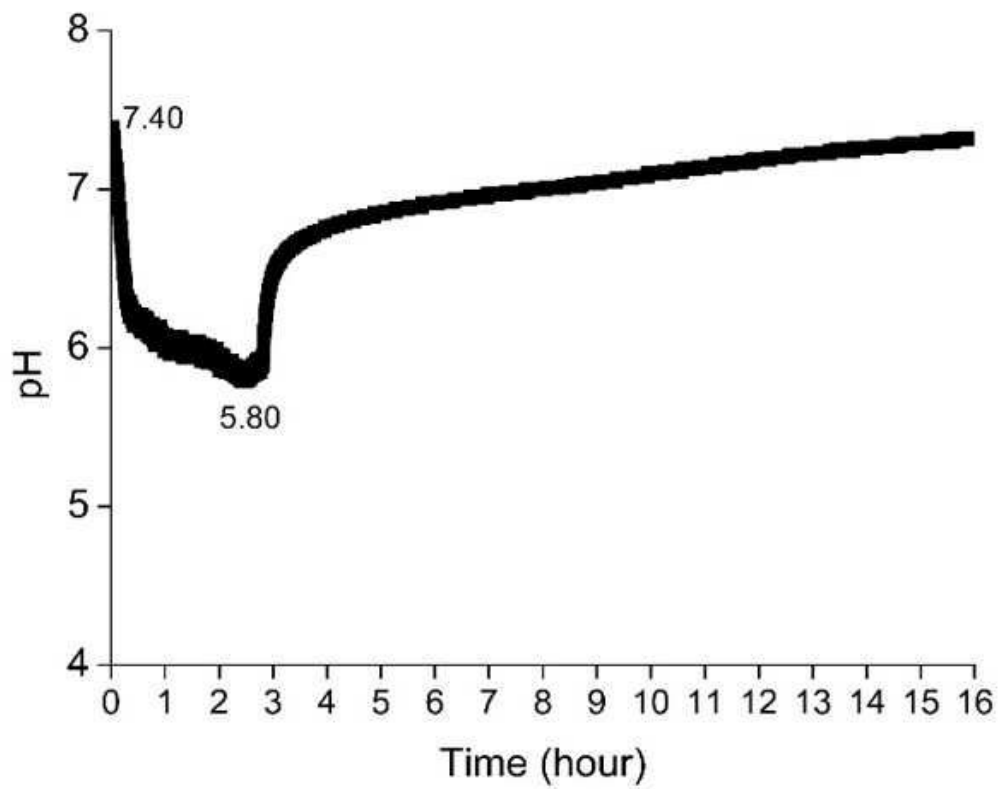


NaOH

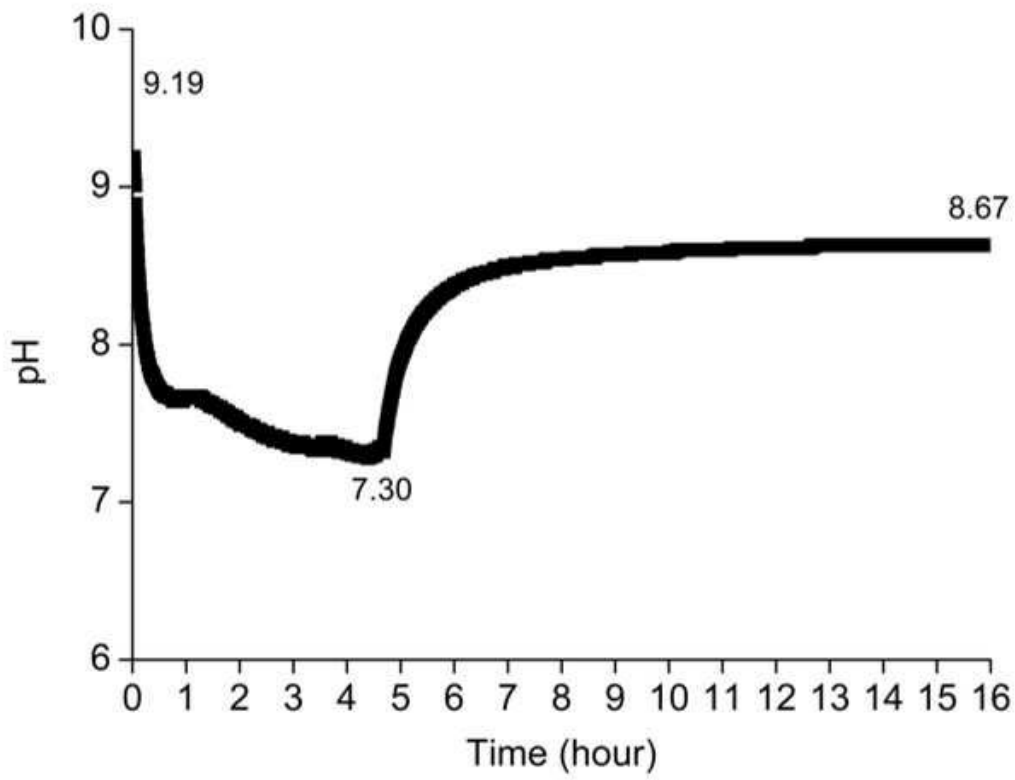
도면3a



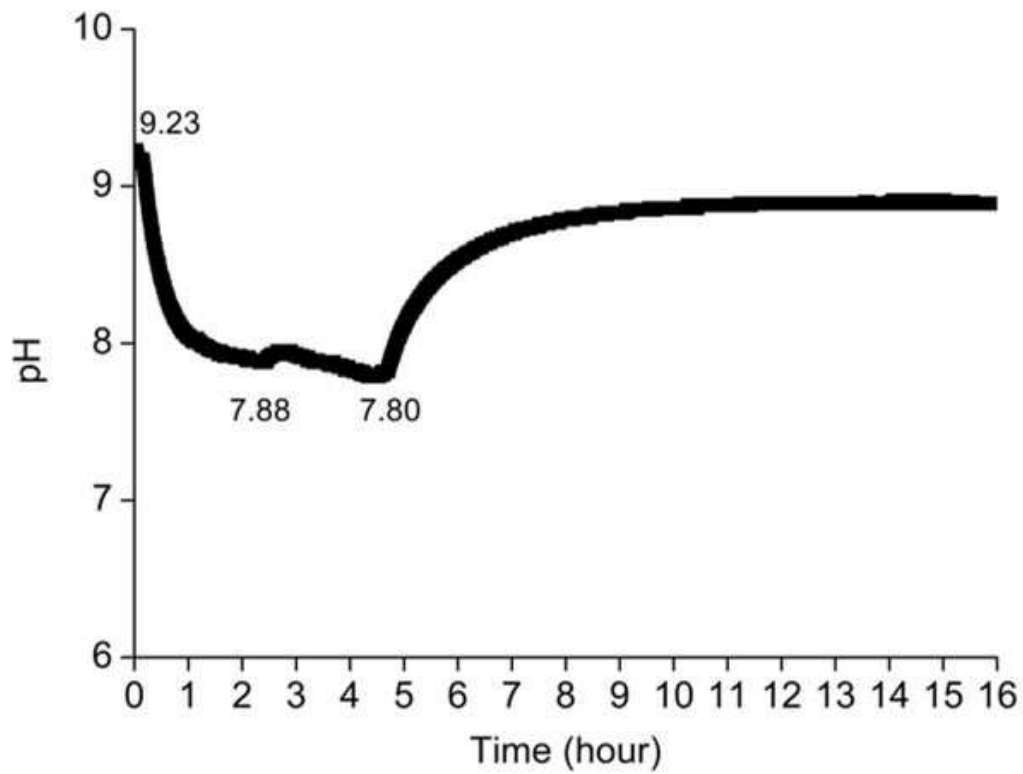
도면3b



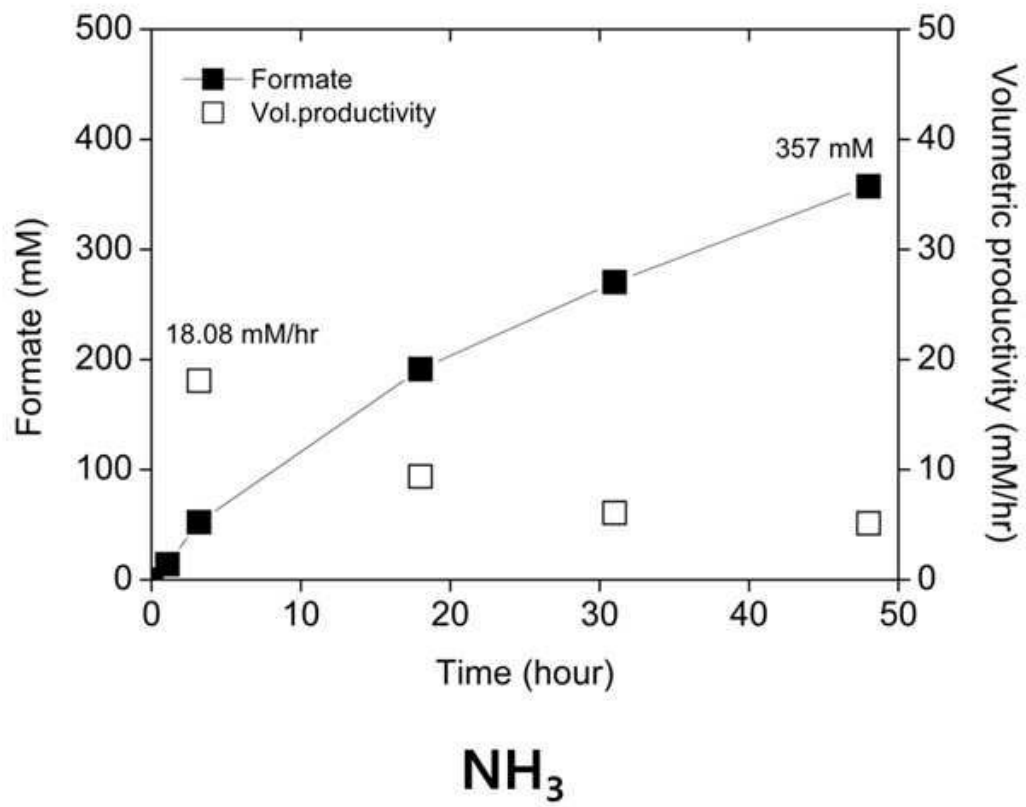
도면3c



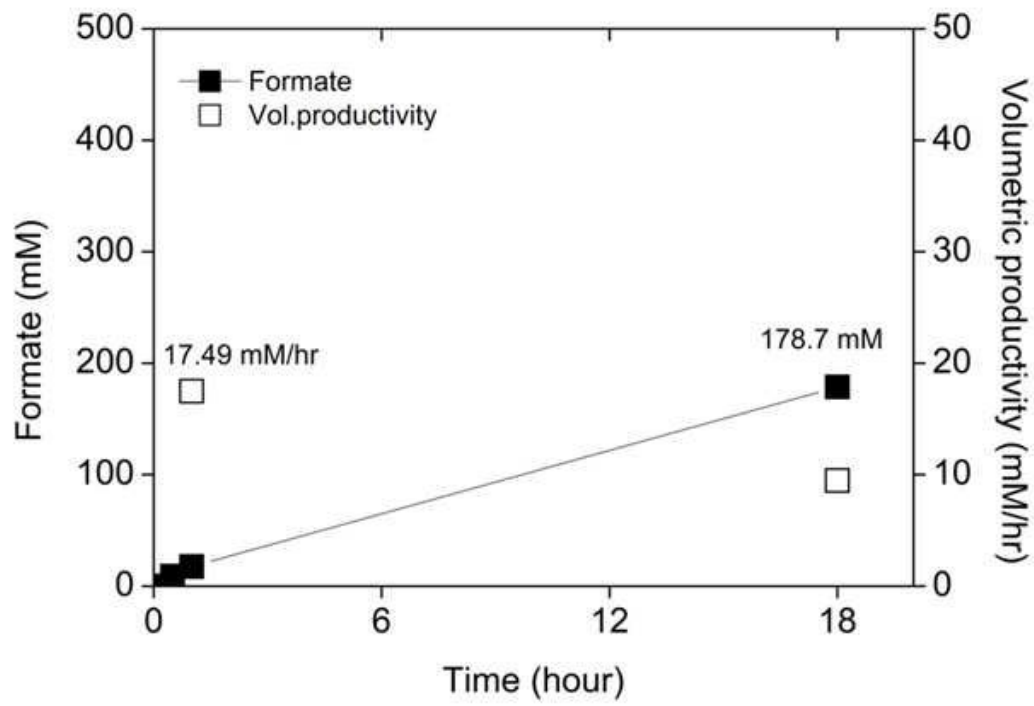
도면3d



도면4a



도면4b



도면4c

