



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2009-0066885
(43) 공개일자 2009년06월24일

(51) Int. Cl.

C12P 19/02 (2006.01) C10J 1/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2007-0134627

(22) 출원일자 2007년12월20일

심사청구일자 2007년12월20일

(71) 출원인

부경대학교 산학협력단

부산 남구 용당동 산 100번지 부경대학교내

(72) 발명자

이진원

서울 송파구 오륜동 올림픽선수촌아파트 201동 1601호

심상준

서울 강남구 도곡2동 도곡텍슬아파트 301-803

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

이덕록

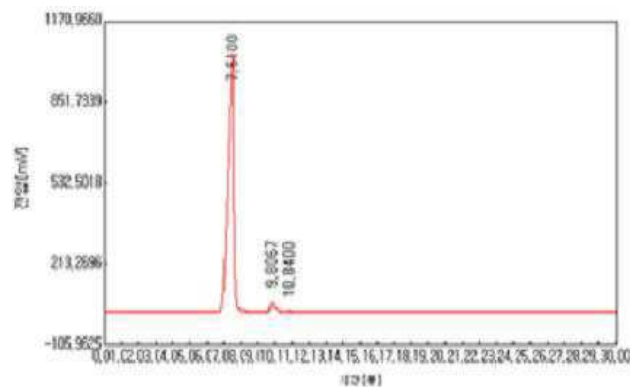
전체 청구항 수 : 총 5 항

(54) 산과 열처리 또는 효소 처리를 이용한 조류로부터 생물자원의 생산방법

(57) 요약

본 발명은 해조류부터의 생물자원 추출방법에 관한 것으로, 해조류를 물에 불리는 단계와 상기 물에 불린 해조류에 2g의 셀룰로즈(cellulose)당 21%의 산(acid) 100mL을 처리하는 단계로 이루어진 것을 특징으로 하는 생물자원 추출방법과 해조류를 물에 불리는 단계, 상기 물에 불린 해조류와 pH4.6의 완충용액을 혼합하여 혼합물을 제조하는 단계 및 상기 혼합물에 노보자임(Novozyme)188 : 셀룰라스트(Celluclast)1.5L = 1 : 2의 비율로 효소를 처리하는 단계로 이루어진 것을 특징으로 하는 해조류부터의 생물자원 추출방법을 제공하여, 종래 목질계 바이오매스의 이용에 있어, 넓은 면적의 토지의 필요성, 식량 값 상승의 문제 및 자원부존량의 지역차가 큰 단점 등을 해소하고, 재생이 가능하며, 광역분산형의 자원인 해양 조류를 에너지로 전환하는 생물자원 추출방법을 제공하는 매우 뛰어난 효과가 있다.

대표도 - 도1a



(72) 발명자

이재화

경남 김해시 장유면 삼문리 켈미마을 부영아파트
406-102호

이수진

서울 마포구 염리동 삼성래미안아파트 108동 604호

김동현

부산 금정구 구서동 415-14 덕인센추리온 1703호

특허청구의 범위

청구항 1

해조류를 물에 불리는 단계;

상기 물에 불린 해조류에 2g의 셀룰로즈당 21%의 산(acid) 100mL을 처리하는 단계로 이루어진 것을 특징으로 하는 해조류로부터의 생물자원 추출방법.

청구항 2

제2항에 있어서, 상기 해조류는 미역이며, 100℃~120℃에서 1시간~1시간 30분 동안 반응시키는 것을 특징으로 하는 생물자원 추출방법.

청구항 3

해조류를 물에 불리는 단계;

상기 물에 불린 해조류와 pH4.6의 완충용액을 혼합하여 혼합물을 제조하는 단계; 및

상기 혼합물에 노보자임(Novozyme)188 : 셀루클라스트(Celluclast)1.5L = 1 : 2의 비율로 효소를 처리하는 단계로 이루어진 것을 특징으로 하는 해조류로부터의 생물자원 추출방법.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 해조류는 미역이며, 110 rpm에서 반응시키는 것을 특징으로 하는 생물자원 추출방법.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 반응시간은 72시간인 것을 특징으로 하는 생물자원 추출방법.

명 세 서

발명의 상세한 설명

기술 분야

<1> 본 발명은 해조류로부터의 생물자원 추출방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 해조류를 물에 불리는 단계와 상기 물에 불린 해조류에 2g의 셀룰로즈(cellulose)당 21%의산(acid) 100mL을 처리하는 단계로 이루어진 것을 특징으로 하는 생물자원 추출방법과 해조류를 물에 불리는 단계, 상기 물에 불린 해조류와 pH4.6의 완충용액을 혼합하여 혼합물을 제조하는 단계 및 상기 혼합물에 노보자임(Novozyme)188 : 셀루클라스트(Celluclast)1.5L = 1 : 2의 비율로 효소를 처리하는 단계로 이루어진 것을 특징으로 하는 해조류로부터 산과 열 및 효소를 이용한 생물자원 추출방법에 관한 것이다.

배경 기술

<2> 바이오매스는 에너지 전용의 작물과 나무, 농산품과 사료작물, 농작 폐기물과 찌꺼기, 임산 폐기물과 부스러기, 수초, 동물의 배설물, 도시 쓰레기, 그리고 여타의 폐기물에서 추출된 재생가능한 유기 물질로 현재 에너지원으로 사용되고 있는 목재, 식물, 농·임산 부산물, 도시 쓰레기와 산업 폐기물 내의 유기 성분 등을 일컫는다.

<3> 바이오매스는 태양에너지를 저장하고 있는 거대한 에너지 창고이다. 이러한 바이오매스를 효과적으로 사용할 수만 있다면 현재 화석연료의 과다한 사용이 가져 오는 에너지난을 손쉽게 해결할 수 있을 것이다. 또한 이러한 바이오매스는 필요한 에너지량만큼을 배양해서 사용하기 때문에 대기 중에 이산화탄소의 과다한 축적을 방지해주므로 현재 매우 심각한 문제로 떠오르고 있는 지구 온난화 문제를 해결해 줄 수 있다.

<4> 바이오매스는 일반적으로 연소(combustion), 건조 화학 공정(dry chemical process), 수성 공정(aqueous process)의 3가지 방법을 통하여 에너지로 전환된다.

- <5> 먼저, 연소는 바이오매스를 고압의 증기를 통하여 전기에너지로 전환시키는 과정이다.
- <6> 둘째로, 건조 화학 공정은 바이오매스의 성격에 따라서 다시 열분해(pyrolysis), 가스화법(gasification), 수성 가스화법(hydrogasification)의 3가지 과정으로 나뉘어 에너지로 전환한다. 이 중에서 열분해는 바이오매스를 기름(oil), 가스(gas), 숯(char)들로 전환시켜 주며, 가스화법은 바이오매스를 메탄(methane), 메탄올(methanol), 암모니아(ammonia) 그리고 전기로 전환시켜준다. 그리고 수성 가스화법은 바이오매스를 메탄(methane), 에탄(ethane), 숯(char)으로 전환시켜 준다.
- <7> 마지막으로, 수성공정은 화학적 환원(chemical reduction), 알콜 발효(alcoholic fermentation), 혐기성 소화(anaerobic digestion)의 3가지 방법을 통하여 바이오매스를 에너지로 전환시킨다. 여기서 화학적 환원은 바이오매스를 기름(oil)로 전환시켜주며, 알콜 발효는 바이오매스를 에탄올(ethanol)로, 혐기성 소화(anaerobic digestion)는 바이오매스를 메탄(methane)으로 전환시켜준다(Slessor and Lewis, 1979).
- <8> 이렇게 에너지로 전환될 수 있는 바이오매스의 종류는 상당히 많지만 그러한 바이오매스들 중에서 배양이 용이하며, 식생활에 영향을 미치지 않으며, 에너지 수요를 충당할 수 있을 만큼의 대량생산이 가능한 자원을 찾는 것이 급선무이다. 실제로 위의 여러 가지 조건들을 만족하는 바이오매스로 현재 각광받고 있는 것 중 하나가 바로 곡물(corn stock)이다,
- <9> 곡물과 같은 목질계 바이오매스들을 에너지로 전환하기 위해서 최근 몇 십 년 동안 화학적(chemical) 방법과 물리적인 방법 그리고 효소(enzyme)를 이용해서 셀룰로스를 글루코스로 전환하는 기술이 활발히 연구되어왔다. 더 나아가서는 셀룰로스 물질(cellulose material)의 전처리를 통해 얻은 글루코스를 원료로 미생물(microorganism)을 이용한 발효를 통한 에탄올(ethanol) 생성에 대한 연구도 상당히 활발하게 진행되어 왔다.
- <10> 이렇게 수십년 동안 발전해온 전처리 기술은 현재까지 모두 셀룰로스 물질(cellulose material)로 식물을 이용해왔다. 식물 속의 셀룰로스를 분해하는 방법으로 가장 널리 이용하는 방법은 효소(enzyme)를 이용한 전처리 방법이다. 그러나 식물 속의 셀룰로스는 리그닌(ligin)과 헤미셀룰로스(hemicellulose)로 보호되어 있다는 것을 발견하고 부티는 산 처리와 열처리와 같은 화학적 및 물리적 방법들을 이용하여 효소가 셀룰로스에 접근하기 용이하게 하는 방법들이 함께 사용되어왔다. 이렇게 발전해온 전처리 방법들의 원리들을 자세히 살펴보면 다음과 같다.
- <11> 우선, 화학적(chemical) 가수분해(hydrolysis)는 H_2SO_4 또는 HCl과 같은 산들을 이용하여 약산 처리를 하는 방법이다. 이렇게 산 처리 후에는 대부분 고온에서 몇 시간 동안 끓여주는 열처리를 하여 셀룰로스의 글루코즈 전환율을 최대화 시킨다.
- <12> 다음으로 효소를 이용하는 방법은 셀룰로스를 효소의 활성이 가장 좋은 최적의 온도와 pH로 맞춘 후, β -글루코시다제(β -glucosidase), 크실라나아제(xylanase), β -크실로시다제(β -xylosidase), α -L-아라비노-프라노시다제(α -L-arabino-franosidase)와 같이 셀룰로스 가수분해(hydrolysis)에 관여하는 효소들을 넣어주는 방법이다. 이렇게 효소를 이용하는 방법은 셀룰로스의 글루코즈 전환율을 높이기 위해서 산 처리나 열처리와 함께 병행되기도 한다.
- <13> 그러나 이러한 목질계 바이오매스는 배양하는데 넓은 면적의 땅이 필요한데에 그 한계점이 있다. 또한 이러한 목질계 바이오매스 중에는 에너지화했을 경우 식량 값의 상승을 가져오는 것들도 많다.
- <14> 이러한 목질계의 단점을 극복하기 위하여 최근에는 해양 속의 바이오매스들을 에너지로 전환 시키는 연구가 활발하게 진행되고 있다. 해양 속의 바이오매스 조류(algae)는 성장속도가 빨라 대량 생산이 가능하며, 별도의 비료나 농업용수를 필요로 하지 않으며, 여러 가지 당 성분과 알긴산을 다량 함유하고 있어서 에너지로 전환하기에 적합하며, 탄수화물의 함량이 목질계 원료에 비해 1.5-2배 정도 높은 데다 목질계 원료에서 반드시 제거해야 하는 리그닌 성분이 없어 제조공정이 간편 해양 속의 바이오매스들을 전처리하기 위한 방법들은 주로 기존의 목질계 바이오매스들을 에너지화하기 위해서 사용하던 전처리 기술들을 응용한 것들이며, 아직 해양조류를 에너지로 전환하는 기술이 아직 명확하게 확립되어있지 않다.
- <15> 이에 본 발명자들은 상기와 같은 종래의 목질계 바이오매스의 이용에 있어, 넓은 면적의 토지의 필요성, 식량 값 상승의 문제 및 자원부존량의 지역차가 큰 문제점을 해소하기 위하여 해양 속의 바이오매스 조류를 전처리하기 위한 기술에 대하여 예의 연구를 거듭한 결과 본 발명에 이르게 되었다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

- <16> 따라서 본 발명의 목적은 재생이 가능하며, 광역분산형의 자원인 해양 조류를 이용하여 효소처리를 통해 생물자원 생산방법을 제공하는 것이다.
- <17> 본 발명의 다른 목적은 조류를 이용하여 산과 열처리를 통해 생물자원 생산방법을 제공하는 것이다.

과제 해결수단

- <18> 본 발명의 상기 목적은, 갈조류(brown algae)에 산과 열 및 효소를 이용하는 전처리 방법을 제공하여 당 성분인 글루코스와 만니톨을 수득함으로써 달성하였다.
- <19> 본 발명은 해조류를 물에 불리는 단계, 상기 물에 불린 해조류와 2g의 셀룰로즈당 21%의 산(acid) 100mL를 처리하는 단계로 이루어진 것을 특징으로 하는 해조류로부터의 생물자원 추출방법을 제공한다.
- <20> 본 발명에서 상기 해조류는 미역이며, 100℃~120℃에서 1시간~1시간 30분 동안 반응시키는 것을 특징으로 하는 생물자원 추출방법을 제공한다.
- <21> 본 발명은 또한 해조류를 물에 불리는 단계, 상기 물에 불린 해조류와 pH4.6의 완충용액을 혼합하여 혼합물을 제조하는 단계 및 상기 혼합물에 노보자임(Novozyme)188 : 셀루클라스트(Celluclast)1.5L = 1 : 2의 비율로 효소를 처리하는 단계로 이루어진 것을 특징으로 하는 해조류로부터의 생물자원 추출방법을 제공한다.
- <22> 본 발명에서 상기 해조류는 미역이며, 110 rpm에서 반응시키는 것을 특징으로 하는 생물자원 추출방법을 제공한다.
- <23> 본 발명에서 상기 반응시간은 72시간인 것을 특징으로 하는 생물자원 추출방법을 제공한다.

효 과

- <24> 본 발명 산과 열처리 또는 효소 처리를 이용한 조류로부터 생물자원의 생산방법은 종래 목질계 바이오매스의 이용에 있어서 넓은 면적의 토지의 필요성, 에너지화했을 경우 식량 값의 상승의 문제 및 자원부존량의 지역차가 큰 단점 등을 해소하고, 재생이 가능하며 광역분산형의 자원인 해양 조류를 에너지로 전환하는 생물자원 추출방법을 제공하는 뛰어난 효과가 있어 생물 자원산업상 매우 우수한 효과가 있다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

- <25> 이하, 본 발명의 구체적인 방법을 실시예를 들어 상세하게 설명하고자 하며, 본 발명의 권리범위는 이들 실시예에만 한정되는 것은 아니다.
- <26> **실시예1: 효소를 이용한 조류의 전처리 방법**
- <27> 자연 건조시킨 미역(brown algae)을 준비하고, 표면에 알긴산이 많은 미역일 경우 3% NaCl로 씻은 후, 미역을 4mm 크기로 절단하였다. 전처리에 사용할 효소의 활동도가 가장 바람직한 pH인 pH4.6으로 구연산(citric acid)과 구연산나트륨(sodium citrate)을 혼합하여 완충용액(buffer)을 맞춘 후에 미역과 완충용액을 혼합하여 오토클레이브(autoclave) 시켰다. β-글루코시다제, 크실라나아제(xylanase), β-크실로시다제(β-xylosidase)와 같이 미역 속의 셀룰로오스를 분해하는데 필요한 효소들을 셀룰로즈 100g 당 4mL 첨가하였다. 그 후 45℃, 110 rpm에서 흔들면서(shaking) 72시간 동안 반응시켰다. 그 결과 얻은 반응물을 HPLC로 분석하였다.
- <28> 실험예1: 효소를 통한 갈조류(brown algae)의 가수분해
- <29>
- <30> 마른 미역을 4mm 크기로 절단한 후, 이를 20g 물에 1시간 불리고, 불린 미역에서 물을 따라낸 후, 1L당 21.01g 구연산 25.5mL, 1L당 29.41g의 구연산 나트륨 24.5mL와 물 50mL이 혼합된 완충용액을(buffer) 미역과 혼합하였다. 그 후 셀룰로즈 100g당 노보자임(Novozyme)188 : 셀루클라스트(Celluclast)1.5L = 1 : 2의 비율로 효소 4mL를 첨가한 후 100℃, 110 rpm에서 배양(incubating)하면서 72시간 동안 반응시켰다.
- <31> 그 결과 얻은 반응물을 HPLC로 분석하였으며, 본 발명에 사용된 HPLC 분석용 컬럼은 Aminex[®] HPX-87H 컬럼(길이 300mm, 내경 7.8mm)이며, 이동상은 0.01N H₂SO₄이며, 온도는 50℃이다. 이 컬럼에 반응물 50μL를 분당 0.6mL 유속으로 흘려 주어 글루코즈, 만니톨은 각각 9.8067분, 10.84분의 retention time을 갖고

용출되었다.

<32> 도 1a에 도시한 바와 같이, 9.74분에 글루코즈가 용출되는 것을 확인할 수 있었으며, 도 1b는 도 1a의 반응물을 HPLC로 분석할 당시 같이 찍은 글루코즈의 피크이며, 도 1c는 시간대별 글루코즈의 농도를 나타낸 도이다.

<33> 실험예2: 효소를 통한 갈조류(brown algae)의 가수분해

<34>

<35> 마른 미역을 4mm 크기로 절단한 후, 이를 20g 물에 1시간 불리고, 불린 미역에서 물을 따라낸 후, NaCl 3%로 미역 표면을 씻었으며, 1L당 21.01g 구연산25.5mL, 1L당 29.41g의 구연산 나트륨 24.5mL와 물 50mL이 혼합된 완충용액을(buffer) 미역과 섞었다. 그 후 셀룰로즈 100g당 노보자임(Novozyme)188 : 셀룰라스트(Celluclast)1.5L = 1 : 2의 비율로 효소 4mL를 첨가한 후 100℃, 110 rpm에서 배양(incubating)하면서 72시간 동안 반응시켰다.

<36> 그 결과 얻은 반응물을 HPLC로 분석하였으며, 본 발명에 사용된 HPLC 분석용 컬럼은 Aminex[®] HPX-87H 컬럼(길이 300mm, 내경 7.8mm)이며, 이동상은 0.01N H₂SO₄이며, 온도는 50℃이다. 이 컬럼에 반응물 50μL를 분당 0.6mL 유속으로 흘려 주면, 도 2에 도시한 바와 같이, 20 hr에 글루코즈가 최대 용출되는 것을 확인할 수 있었다. 20시간 후에는 글루코즈가 다시 분해되어 점차 없어지는 것으로 추정되었다. 또한 산성인 버퍼 속에서 장시간 노출된 미역으로부터 만니톨도 용출되는 것을 확인할 수 있었다.

<37>

<38> 실시예 2: 산과 열처리를 통한 조류의 전처리 방법

<39> 자연 건조시킨 미역을 준비하고, 표면에 알긴산이 많은 미역일 경우 3% NaCl로 씻어준다. 그 후 미역을 4mm 크기로 절단한 후, 절단한 미역에 2g 셀룰로즈 당 21%의 H₂SO₄를 100mL 넣어주었다. 이때, 조류의 종류에 따라서 최적의 H₂SO₄의 %농도는 달라질 수 있다.

<40> 그 후 100℃에서 1시간 동안 열처리를 하였다. 그 후 일정 시간 동안 채취한 시료를 HPLC로 분석하였다.

<41> 실험예 1: 산과 열처리를 통한 갈조류(brown algae)의 가수분해

<42>

<43> 마른 미역을 4 mm 크기로 절단한 후, 마른 미역 20g을 물에 1시간 불린 후에, 불린 미역에서 물을 따라 내었다. 그 후 NaCl 3%로 미역의 표면 씻었으며, 2g 셀룰로즈 당 21%의 H₂SO₄ 100mL를 미역과 혼합한 후, 100℃에서 1시간30분 동안 가열하였다.

<44> 그 결과 얻은 반응물을 HPLC로 분석하였으며, 본 발명에 사용된 HPLC 분석용 컬럼은 Aminex[®] HPX-87H 컬럼(길이 300mm, 내경 7.8mm)이며, 이동상은 0.01N H₂SO₄이며, 온도는 50℃였다. 이 컬럼에 반응물 50μL를 분당 0.6mL 유속으로 흘려 주면, 도 3a에 도시한 바와 같이 셀로바이오스나 lamminaran으로 추정되나 HPLC로 확인 불가능한 물질, 글루코즈, 만니톨은 각 8.1533분, 9.9150분, 11.8017 분의 머무름 시간을 갖고 용출되었다. 상기 반응물에 0.05M의 만니톨(mannitol)과 0.1M의 만니톨을 넣고 상기와 같은 조건에서 HPLC로 분석하였으며, 그 결과 각각 도 3b와 도 3c와 같은 결론을 얻을 수 있었다.

<45> 이상 실시예에서 명백한 바와 같이 본 발명은, 해조류에 산과 열 및 효소를 이용하는 전처리 방법을 제 공함으로써 당 성분인 글루코즈 및 만니톨을 수득하였으며, 이를 원료로 미생물을 이용한 에탄올 발효를 통하여 생물자원으로서 일상생활에 필요한 생물 제품과 에너지 생산에 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

<46> 도 1은 (a) 미역으로부터 효소를 이용한 생물자원 추출결과를 HPLC로 분석한 도이다.

<47> (b) 도 1a의 반응물을 HPLC로 분석할 당시 같이 찍은 글루코즈의 피크(peak)를 도시한 도이다.

<48> (c) 도 1a의 시간대별 글루코즈 몰농도를 도시한 도이다.

<49> 도 2는 미역으로부터 효소를 이용한 생물자원 추출결과를 HPLC로 분석한 도이다,

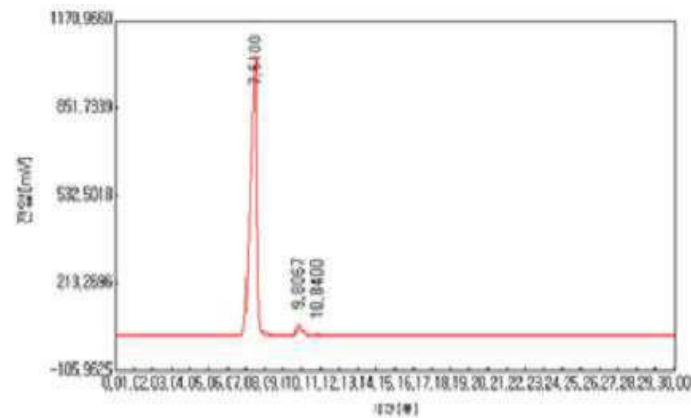
<50> 도 3은 (a)는 미역으로부터 산과 열을 이용한 생물자원 추출결과를 HPLC로 분석한 도이다.

<51> (b) 도 3a의 반응물에 0.05M 만니톨(mannitol)을 넣고 HPLC로 분석한 도이다. 반응물에 만니톨이 함유되어 있음을 알 수 있다.

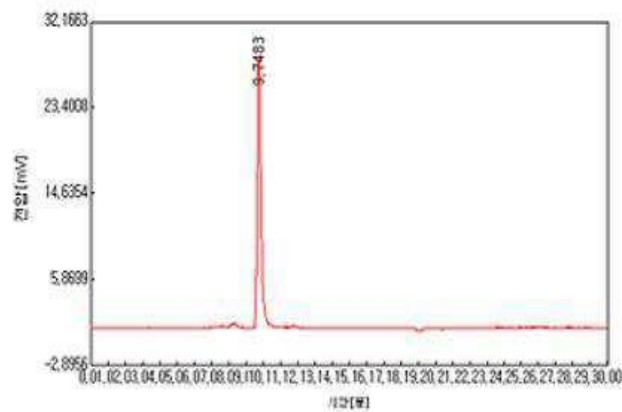
<52> (c) 는 도 3a의 반응물에 0.1M 만니톨(mannitol)을 넣고 HPLC로 분석한 도이다.

도면

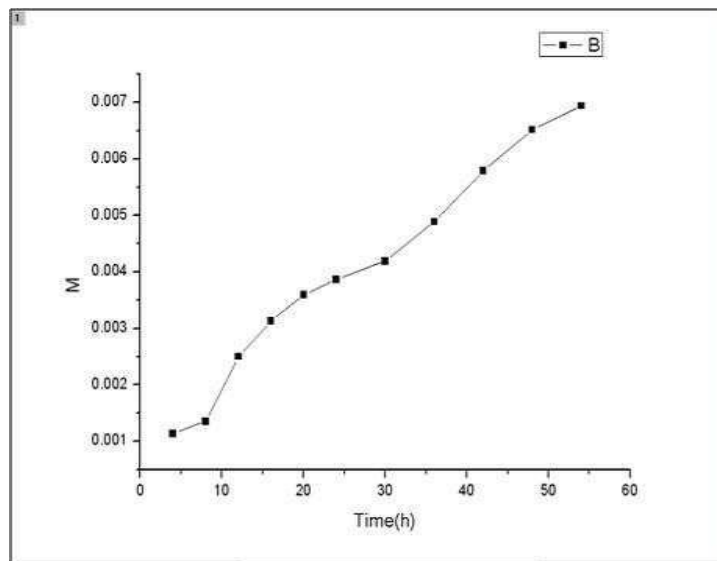
도면1a



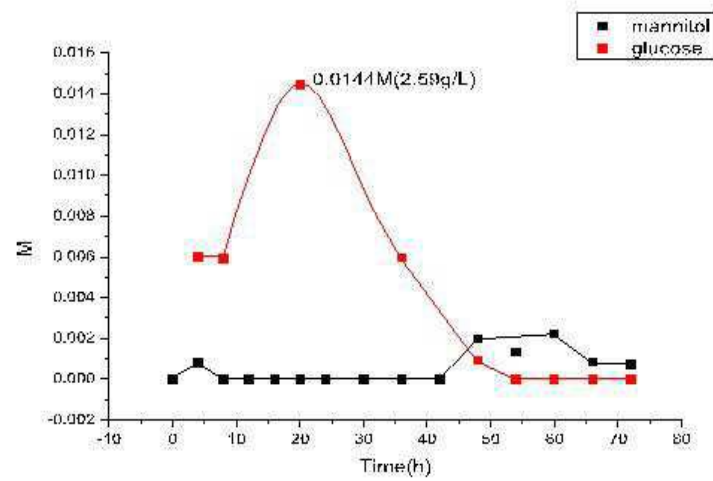
도면1b



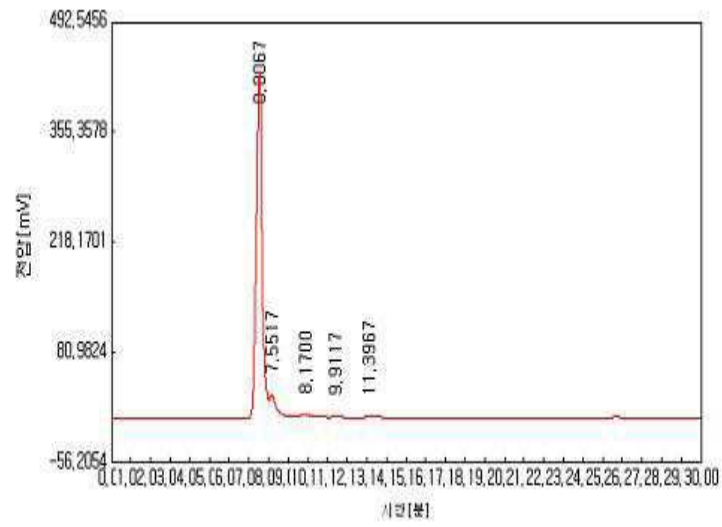
도면1c



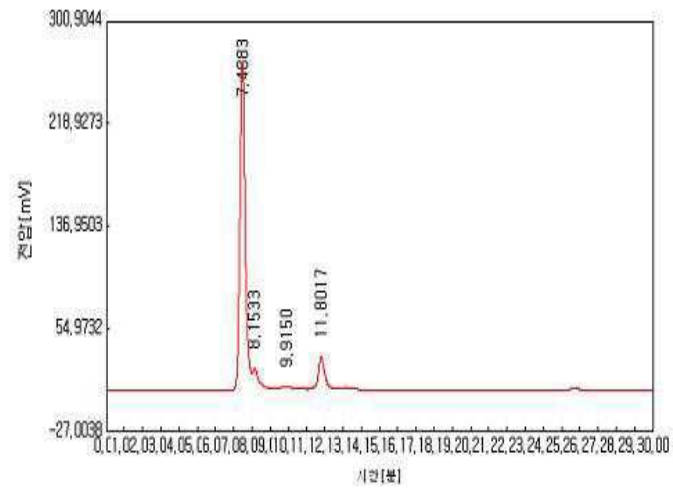
도면2



도면3a



도면3b



도면3c

