(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2013-0015178
(43) 공개일자 2013년02월13일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C08B 1/00 (2006.01) *C12P 7/10* (2006.01)
C10L 1/02 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2011-0077033
(22) 출원일자 2011년08월02일
심사청구일자 2011년08월02일

(71) 출원인
단국대학교 산학협력단
경기도 용인시 수지구 죽전동 126 단국대학교 내
부경대학교 산학협력단
부산광역시 남구 신선로 365 (용당동, 부경대학교)
(72) 발명자
오경근
경기도 성남시 분당구 정자일로 239, 03동 2503호 (정자동, 아이파크분당1)
류현진
충청남도 천안시 서북구 한들3로 100, 백석아이파크 108동 403호 (백석동)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인가산

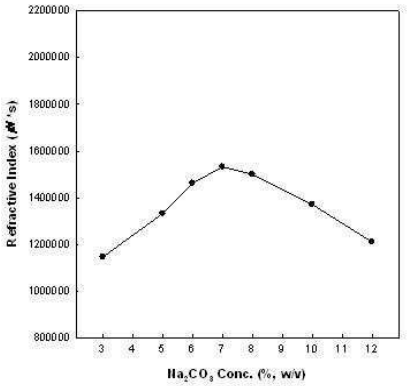
전체 청구항 수 : 총 18 항

(54) 발명의 명칭 **바이오 에너지 생산을 위한 갈조류의 전처리 방법 및 이를 이용한 바이오 에너지 생산 방법**

(57) 요 약

본 발명은 바이오 에너지 생산을 위한 갈조류의 전처리 방법 및 이를 이용한 바이오 에너지 생산 방법을 제공한다. 본 발명의 바이오 에너지 생산을 위한 갈조류의 전처리 방법은, 나트륨염 촉매의 존재 하에 갈조류를 110 ℃ 내지 170 ℃의 온도에서 20 분 내지 70 분 동안 반응시키는 것을 포함한다.

대 표 도 - 도4



(72) 발명자

우희철

부산광역시 남구 분포로 111, LG메트로시티 133동 406호 (용호동)

최원일

경기도 안양시 안양1동 성원아파트 703호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	99525
부처명	농림수산식품부
연구사업명	바이오매스용 해조류 대량생산 기술 개발
연구과제명	원료수급 및 전처리 기술
주관기관	부경대학교 산학협력단
연구기간	2010.10.01 ~ 2011.08.31

특허청구의 범위

청구항 1

나트륨염 촉매의 존재 하에 갈조류를 110 ℃ 내지 170 ℃의 온도에서 20 분 내지 70 분 동안 반응시키는 것을 포함하는 바이오 에너지 생산을 위한 갈조류의 전처리 방법.

청구항 2

제1 항에 있어서,

상기 갈조류는 다시마를 포함하는 바이오 에너지 생산을 위한 갈조류의 전처리 방법.

청구항 3

제1 항에 있어서,

상기 나트륨염 촉매가 탄산나트륨을 포함하는 바이오 에너지 생산을 위한 갈조류의 전처리 방법.

청구항 4

제3 항에 있어서,

상기 나트륨염 촉매의 농도가 5 wt% 내지 10 wt%인 바이오 에너지 생산을 위한 갈조류의 전처리 방법.

청구항 5

제1 항에 있어서,

상기 반응에 의해 상기 갈조류에 포함된 알긴산이 분해되는 바이오 에너지 생산을 위한 갈조류의 전처리 방법.

청구항 6

제1 항에 있어서,

상기 반응 전에 상기 갈조류를 입자 형태로 분쇄하는 것을 더 포함하는 바이오 에너지 생산을 위한 갈조류의 전처리 방법.

청구항 7

제6 항에 있어서,

상기 입자의 크기가 8 메시(mesh) 이상인 바이오 에너지 생산을 위한 갈조류의 전처리 방법.

청구항 8

제1 항에 있어서,

상기 나트륨염 촉매는 용매에 용해된 액상 촉매인 바이오 에너지 생산을 위한 갈조류의 전처리 방법.

청구항 9

제8 항에 있어서,

상기 반응 후에, 원심분리를 수행하여 고체와 액체를 분리하는 것을 더 포함하는 바이오 에너지 생산을 위한 갈조류의 전처리 방법.

청구항 10

제9 항에 있어서,

상기 고체 내에 알긴산이 제거된 갈조류가 포함된 갈조류의 전처리 방법.

청구항 11

갈조류를 분쇄하고,

분쇄된 갈조류를 나트륨이 포함된 액상 촉매의 존재 하에 110 ℃ 내지 170 ℃의 온도에서 20 분 내지 70 분 동안 반응시켜 상기 갈조류에 포함된 알긴산을 분해하고,

상기 반응 후에 상기 알긴산이 분해된 갈조류를 분리하는 것을 포함하는 바이오 에너지 생산을 위한 갈조류의 전처리 방법.

청구항 12

제11 항에 있어서,

상기 나트륨이 포함된 액상 촉매의 농도가 5 wt% 내지 10 wt%인 바이오 에너지 생산을 위한 갈조류의 전처리 방법.

청구항 13

제12 항에 있어서,

상기 나트륨이 포함된 액상 촉매가 탄산 나트륨인 바이오 에너지 생산을 위한 갈조류의 전처리 방법.

청구항 14

갈조류를 전처리하고,

상기 전처리된 갈조류에 산을 가하여 가수분해에 의해 당을 생성하고,

상기 가수분해 후에 상기 생성된 당과 갈조류를 분리하고,

상기 생성된 당을 미생물을 이용하여 발효시켜 에탄올을 생성하는 것을 포함하되,

상기 전처리가, 나트륨염 촉매의 존재 하에 갈조류를 110 ℃ 내지 170 ℃의 온도에서 20 분 내지 70 분 동안 반응시키는 것인 바이오 에너지 생산 방법.

청구항 15

제14 항에 있어서,

상기 나트륨염이 탄산나트륨염이며, 상기 탄산나트륨염의 농도가 5 wt% 내지 10 wt%인 바이오 에너지 생산 방법.

청구항 16

제14 항에 있어서,

상기 가수분해에 의해 당을 생성하는 것이,

상기 전처리된 갈조류에 제1 산을 가하여 제1 가수분해를 수행하여 당을 생성하고,

상기 제1 가수분해에 의해 생성된 당을 분리하고,

상기 제1 가수분해에 의해 생성된 당을 분리한 후, 잔여 바이오매스에 제2 산을 가하여 제2 가수분해를 수행하는 것을 포함하는 바이오 에너지 생산 방법.

청구항 17

제16 항에 있어서,

상기 제1 가수분해는 황산을 가하여 170 ℃ 내지 200 ℃에서 60초 내지 240초 동안 수행되고,

상기 제2 가수분해는 황산을 가하여 170 ℃ 내지 200 ℃의 온도에서 150 내지 260 초 동안 수행되는 바이오 에너지 생산 방법.

청구항 18

제14 항에 있어서,

상기 갈조류가 다시마인 바이오 에너지 생산 방법.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 바이오 에너지 생산을 위한 갈조류의 전처리 방법 및 이를 이용한 바이오 에너지 생산 방법에 대한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 18세기 산업혁명 이후 세계적인 산업화 및 동력화가 이루어짐에 따라 석유를 기반으로 한 연료 사용량이 급격히 증가하고 있으며, 이는 전체 에너지 소비량의 약 80%에 해당하는 양으로 심각한 환경오염 문제를 야기하고 있다. 이러한 가운데 바이오매스는 기존의 화석 및 석유화학계 소재를 대체할 수 있는 재생 가능한 에너지 소재로서, 환경문제 및 에너지 고갈 문제를 동시에 해결할 수 있는 차세대 에너지원으로 주목 받고 있다.

[0003] 바이오매스는 1세대 원료인 전분질계, 2세대 원료인 목질계 및 3세대 원료인 해조류로 분류된다. 이 중 3세대 원료인 해조류는 헤미셀룰로오스 (hemicellulose)나 리그닌(lignin)과 같은 구조적 고분자(polymer)를 함유하고 있지 않아 화학적, 효소적 처리 과정 없이 간단한 공정만으로 바이오 연료 생산이 가능하고, 다양한 수중환경에서 성장이 가능하여 제1 세대 원료와 제2 세대 원료의 대안적 바이오매스(alternative biomass)로 부각되고 있다.

[0004] 바이오매스는 i) 전처리 공정을 이용하여 셀룰로오스를 추출한 후 이를 ii) 단당류로 분해시키고(당화공정), iii) 발효 공정을 거쳐 에탄올로 전환될 수 있다. 이러한 공정 중에서 결정적인 단계는 전처리 공정이다. 전처리 공정에 따라 셀룰로오스 추출 효율이 결정되고 추출된 셀룰로오스가 당으로 전환되는 당화효율이 결정되기 때문이다. 그러나, 해조류의 일종인 갈조류에는 알긴산이 포함되어 있어 전처리 공정외에도 알긴산을 제거하는 공정이 필요하다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 본 발명이 해결하려는 과제는 알긴산을 효율적으로 제거하여 당화 수율을 높일 수 있는 바이오 에너지 생산을 위한 갈조류의 전처리 방법을 제공하는 것이다.

[0006] 본 발명이 해결하려는 다른 과제는 높은 수율로 에탄올을 생산할 수 있는 바이오 에너지 생산 방법이다.

[0007] 본 발명의 기술적 과제들은 이상에서 언급한 기술적 과제들로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 기술적 과제들은 아래의 기재로부터 당업자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0008] 상기 과제를 해결하기 위해, 본 발명의 바이오 에너지 생산을 위한 갈조류의 전처리 방법의 일 태양(aspect)은, 나트륨염 촉매의 존재 하에 갈조류를 110 ℃ 내지 170 ℃의 온도에서 20 분 내지 70 분 동안 반응시키는 것을 포함한다.

[0009] 상기 과제를 해결하기 위해, 본 발명의 바이오 에너지 생산을 위한 갈조류의 전처리 방법의 다른 태양(aspect)은, 갈조류를 분쇄하고, 분쇄된 갈조류를 나트륨이 포함된 액상 촉매의 존재 하에 110 ℃ 내지 170 ℃의 온도에서 20 분 내지 70 분 동안 반응시켜 상기 갈조류에 포함된 알긴산을 분해하고, 상기 반응 후에 상기 알긴산이 분해된 갈조류를 분리하는 것을 포함한다.

[0010] 상기 과제를 해결하기 위해, 본 발명의 에탄올을 생산하는 방법의 일 태양은, 갈조류를 전처리하고, 상기 전처리된 갈조류에 산을 가하여 가수분해에 의해 당을 생성하고, 상기 가수분해 후에 상기 생성된 당과 갈조류를 분리하고, 상기 생성된 당을 미생물을 이용하여 발효시켜 에탄올을 생성하는 것을 포함하되,

[0011] 상기 전처리하는 것이, 나트륨염 촉매의 존재 하에 갈조류를 110 ℃ 내지 170 ℃의 온도에서 20 분 내지 70 분 동안 반응시키는 것을 포함한다.

[0012] 기타 실시예들의 구체적인 사항들은 상세한 설명에 포함되어 있다.

발명의 효과

[0013] 본 발명의 갈조류의 전처리 방법에 따르면, 간단한 공정에 의해 알긴산을 효율적으로 분리하는 동시에 바이오매스의 전처리까지 수행됨으로 당화 수율이 향상된다.

[0014] 또한, 전처리시 황산 등의 강산을 이용하지 않기 때문에 공정이 단순하고 별도의 산 제거 공정이 필요치 않다.

[0015] 본 발명의 전처리 방법에 따르면 바이오매스로부터 높은 수율로 셀룰로오스를 추출할 수 있고 에탄올 생산 수율을 향상시킬 수 있다.

[0016] 본 발명에 따른 효과는 이상에서 예시된 내용으로 제한되지 않으며, 더욱 다양한 효과들이 본 명세서 내에 포함되어 있다.

도면의 간단한 설명

[0017] 도 1은 본 발명에서 사용한 알긴산의 정량법에서 알긴산 농도와 비례적 관계를 가지는 알긴신산 유래 단량체 피크를 나타낸 것이다.

도 2는 촉매의 종류에 따른 바이오매스의 전처리 후의 추출된 알긴산의 농도 및 글루칸의 함량을 나타낸 것이다.

도 3은 바이오매스의 입자의 크기에 따른 바이오매스의 전처리 후 추출된 알긴산의 농도를 나타낸 것이다.

도 4는 촉매의 농도에 따른 바이오매스의 전처리 후 추출된 알긴산의 농도를 나타낸 것이다.

도 5는 반응 온도에 따른 바이오매스의 전처리 후 추출된 알긴산의 농도를 나타낸 것이다.

도 6은 반응 시간에 따른 바이오매스의 전처리 후 추출된 알긴산의 농도를 나타낸 것이다.

도 7은 전처리 후 효소가수분해 결과를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0018] 본 발명의 이점 및 특징, 그리고 그것들을 달성하는 방법은 상세하게 후술되어 있는 실시예들을 참조하면 명확해질 것이다. 그러나 본 발명은 이하에서 개시되는 실시예들에 한정되는 것이 아니라 서로 다른 다양한 형태로 구현될 수 있으며, 단지 본 실시예들은 본 발명의 개시가 완전하도록 하고, 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 발명의 범주를 완전하게 알려주기 위해 제공되는 것이며, 본 발명은 청구항의 범주에 의해 정의될 뿐이다.

[0019] 본 명세서에서, 단수형은 문구에서 특별히 언급하지 않는 한 복수형도 포함하며, "포함한다(comprises)" 및/또는 "포함하는(comprising)" 은 하나 이상의 다른 구성요소의 존재 또는 추가를 배제하지 않는다.

[0020] 이하, 당업자가 명확하게 이해할 수 있도록 본 발명을 상세하게 설명한다.

[0021] 우선, 본 발명에 따른 바이오 에너지 생산을 위한 바이오매스(biomass)의 전처리 방법을 설명한다.

[0022] 본 발명에 따른 바이오매스의 전처리 방법은, 반응 단계(S2)를 포함하며, 바이오매스 분쇄 단계(S1) 또는 분리 단계(S3) 등을 더 포함할 수 있다.

[0023] 상기 바이오매스는 열분해 및 발효되어 메탄, 에탄올, 수소와 같은 연료를 만들어 지속가능한 에너지를 생산해 내는 생물체를 총칭하는 것으로, 알긴산을 포함할 수 있다. 본 발명에 따른 전처리 방법에 의해 바이오매스에서 셀룰로오스 성분을 제외한 기타 성분을 제거하고, 바이오매스의 당화 공정에서 산 등을 사용한 가수분해시 산이 용이하게 침투할 수 있도록 바이오매스를 처리할 수 있을 뿐만 아니라, 바이오매스 내에 포함된 알긴산(Alginate)을 제거할 수 있다. 따라서, 상기 바이오매스는 알긴산을 포함할 수 있다. 구체적으로 상기 바이오매스는 갈조류일 수 있으나, 갈조류에 한정하는 것은 아니며, 알긴산을 포함하고 있다면 제한이 없다. 갈조류(Algae)는 푸쿠스 종(Fucus species)과 거대조류인 켈프(kelps)를 포함하는 것으로 다량의 유기 탄소를 생성하고, 성장 속도가 매우 빨라 짧은 기간 안에 수확이 가능하므로 바이오 에너지 생산을 위한 바이오매스로서 활용

가치가 높다. 그러나, 갈조류는 탄소화물의 대부분이 알긴산으로 이루어져 있기 때문에 이를 당화하는 경우 당화 수율이 낮다. 그러나, 본 발명에서는 갈조류에서 알긴산을 제거하는 전처리를 수행하여 전처리된 갈조류를 이용하여 당화하는 경우 당화 수율을 향상시킬 수 있다. 상기 갈조류는 예를 들어, 부채말, 다시마, 미역, 톳, 모자반 등이 있으나, 이에 한정하는 것은 아니다.

[0024] 바이오매스 분쇄 단계(S1)는 바이오매스를 소정의 크기로 분쇄하는 단계이다. 구체적으로 블레이드 밀로 분쇄한 후 수분함량이 10% 미만이 되도록 건조하여 사용할 수 있다. 바이오매스를 소정의 크기로 분쇄하게 되면 전처리에 사용되는 촉매와의 접촉면적을 넓혀 전처리 효율을 향상시킬 수 있다. 상기 바이오매스가 갈조류 중의 하나인 다시마인 경우 입자의 크기가 5 메시(mesh) 이상이 되도록 분쇄하여 사용할 수 있다. 보다 구체적으로, 8 메시 이상의 크기를 갖도록 분쇄할 수 있다. 바이오매스 입자의 크기가 작을수록 미세한 분말 형태이므로 입자끼리의 응집이 발생하고 이로 인해 전처리시 촉매와의 접촉면적이 감소할 수 있다. 촉매와의 접촉 면적이 감소하는 경우 반응이 원활히 일어나지 않은 알긴산이 제거되지 않을 수 있다. 바이오매스 분쇄 단계(S1)는 당업자의 선택에 따라 생략할 수 있으며, 분쇄하지 않은 바이오매스 자체를 사용하여도 무방하다.

[0025] 반응 단계(S2)는 나트륨 염 촉매의 존재 하에 바이오매스를 반응시키는 단계이다. 구체적으로 반응기 내에 바이오매스를 주입하고 촉매의 존재하에 반응시켜 바이오매스 내에 존재하는 알긴산을 제거하는 단계이다.

[0026] 상기 촉매는 구체적으로 나트륨염 촉매일 수 있다. 나트륨염 촉매를 사용하는 경우 바이오매스에 포함된 셀룰로오스에는 영향을 미치지 않으면서 바이오매스로부터 알긴산을 제거할 수 있다. 이 때, 알긴산이 분해되면서 바이오매스로부터 분리될 수 있다.

[0027] 상기 나트륨염 촉매는 예를 들어, 염화나트륨, 수산화나트륨, 탄산나트륨 등을 사용할 수 있으나, 이에 한정하는 것은 아니다. 탄산나트륨을 촉매로 사용하는 경우 바이오매스로부터 글루코스를 분해 추출하지 않으면서 알긴산만 추출하여 분리할 수 있다.

[0028] 상기 나트륨염 촉매는 액상의 형태로 전처리 공정 동안 존재할 수 있다. 촉매를 액상의 형태로 제공하는 경우 바이오매스와의 접촉이 원활하여 알긴산을 바이오매스로부터 효과적으로 제거할 수 있다. 액상 형태의 나트륨염 촉매는 나트륨염을 물에 용해하여 제조할 수 있다.

[0029] 상기 나트륨염 촉매는 5 wt% 내지 10 wt%의 농도로 존재할 수 있으며, 구체적으로, 6 내지 8 wt% 농도의 나트륨염 촉매를 사용할 수 있다. 상기 농도 범위에서 알긴산을 바이오매스로부터 효과적으로 분리하여 전처리된 바이오매스를 당화하는 경우 당화 수율을 향상시킬 수 있을 뿐만 아니라 바이오매스에 존재하는 글루코스에는 영향을 미치지 않는다.

[0030] 상기 반응은 110 ℃ 내지 170 ℃의 온도에서 20 분 내지 70 분 동안 진행될 수 있다. 구체적으로, 130 ℃ 내지 150 ℃의 온도 범위에서 30 내지 40 분 동안 수행될 수 있다. 110 ℃ 내지 170 ℃의 온도에서 20 분 내지 70 분 동안 반응이 수행되는 경우 바이오매스 내에 존재하는 알긴산이 최대로 제거되는 한편, 바이오매스 내에 존재하는 글루코스는 최소로 추출된다.

[0031] 고체인 바이오매스에 액상 촉매를 사용하므로 상기 반응은 고-액 반응일 수 있다. 이 때, 바이오매스 내에 존재하는 알긴산은 분해되어 바이오매스 밖으로 추출되어 액상 내에 존재하거나, 분해되지 않고 알긴산 자체의 형태로 바이오매스로부터 제거되어 액상 내에 존재할 수 있다.

[0032] 분리 단계(S3)는 전처리되어 알긴산이 제거된 바이오매스를 분리하는 단계이다. 구체적으로, S2 단계에서 반응 종료 후에 원심분리를 수행하여 고체와 액체를 분리하고, 이 중 고체만을 취하여 전처리된 바이오매스를 얻는 단계이다. 반응 단계(S2)에서 제거된 알긴산 또는 이의 분해산물은 액상 내에 존재하므로 고-액 분리를 통해 고체만 취함으로써 전처리된 바이오매스를 얻을 수 있다.

[0033] 상술한 바와 같이 본 발명의 전처리 방법에 의해 갈조류로부터 알긴산을 제거하여 당화공정에서 바이오매스가 당으로 전환되는 효율을 상승시킬 수 있다. 또한 산처리 등의 가혹한 조건에서 반응시키지 않아도 되므로 공정이 단순하고 산 제거 공정 등이 필요없다.

[0034] 이하, 본 발명의 바이오 에너지 생산 방법에 대해 설명한다. 본 발명의 바이오 에너지 생산 방법은 상술한 갈조류의 전처리 방법을 이용한다.

[0035] 본 발명의 바이오 에너지 생산 방법은 전처리 단계(S110), 당화 단계(S120), 발효 단계(S130) 등을 포함한다.

[0036] 전처리 단계(110)는 바이오 매스의 당화시 당화 효율이 상승될 수 있도록 바이오매스를 처리하는 단계로, 상술

한 본 발명에 따른 전처리 방법을 이용할 수 있다. 상기 바이오매스는 갈조류에 한하지 않으며, 알긴산을 포함하고 있는 바이오매스라면 제한이 없다. 전처리 단계(110)는 전술한 본 발명의 일 실시예에 따른 전처리 방법에 의해 수행할 수 있다. 따라서, 전처리 단계(S110)에서 바이오매스에 포함된 알긴산이 제거할 수 있다.

[0037] 당화 단계(S120)는 전처리를 거친 바이오매스로부터 당(glucose)을 생산하는 단계이다. 구체적으로 전처리를 거친 바이오매스에 산(acid)을 가하여 가수분해를 수행하여 당을 생산할 수 있다. 이 때, 상기 산은 예를 들어, 황산(H2SO4), 염산(HCl), 브롬산(HBr), 질산(HNO_3), 아세트산(CH_3COOH), 포름산(HCOOH), 과염소산($HClO_4$), 인산(H3PO4) 및 p-톨루엔 황산(PTSA, para-toluene sulfonic acid)으로 이루어진 군으로부터 선택된 단독 또는 이들의 혼합물을 사용할 수 있으나, 이에 한정하는 것은 아니다.

[0038] 상기 가수분해는 다수의 단계로 수행될 수 있으며, 예를 들어 제1 가수분해를 수행하고 제1 가수분해 수행 후 남아있는 잔여 바이오매스에 대하여 제2 가수분해를 수행할 수 있다.

[0039] 상기 제1 가수분해에 의해 바이오매스에 포함된 셀룰로오스의 결정형과 무정형이 모두 가수분해될 수 있다. 구체적으로, 상기 제1 가수분해 시에는 결정형보다 분해되기 쉬운 무정형의 셀룰로오스가 먼저 분해될 수 있다. 상기 제1 가수분해는 170 ℃ 내지 200 ℃에서 1 내지 5 분 동안 수행될 수 있다 상기 온도 및 시간 조건에서 당의 생산량이 가장 높고, 생산된 당의 분해가 최소화되어 가장 높은 수율을 얻을 수 있다. 상기 제1 가수분해시 산이 사용될 수 있으며, 상기 산은 H_2SO_4, HCl, HBr, HNO_3, CH_3COOH, HCOOH, $HClO_4$, H_3PO_4, 및 PTSA로 이루어진 군으로부터 선택된 단독 또는 이들의 혼합물을 사용할 수 있다. 구체적으로 묽은 황산을 사용할 수 있으며, 3 내지 5 wt%의 황산을 사용할 수 있다. 상기 농도의 황산을 사용하는 경우 당의 생성 수율이 높을 뿐만 아니라 농축산이 아닌 묽은 산을 사용하므로 산의 분리에 추가되는 비용이 최소화될 수 있다.

[0040] 상기 제1 가수분해에 의해 생성된 당은 단당류일 수 있으며, 액체 내에 용해되어 있다. 구체적으로, 상기 당은 글루코스(glucose)일 수 있으며, 상기 글루코스의 수율은 30 내지 40 %일 수 있다. 제1 가수분해 후에 생산된 당은 후속 반응에 의해 분해되지 않도록 고-액 분리를 통해 분리한다. 생성된 당을 분리하지 않는 경우 장시간 동안 가수분해 반응이 진행되어 생성물인 글루코스 등이 과분해되어 5-HMF, 포름산, 레블린산 등으로 변환될 수 있기 때문이다.

[0041] 이어서, 제1 가수분해에 의해 생성된 당을 분리하고 남아있는 잔여 바이오매스에 산을 가하여 제2 가수분해를 수행한다. 셀룰로오스는 구조적 또는 성분적으로 균일한 물질이 아니므로 모두 같은 조건에서 쉽게 가수분해되지 않는다. 따라서, 상기 제1 가수분해에서 분해되지 않은 셀룰로오스 부분이 제2 가수분해 단계에서 분해되어 당으로 전환될 수 있다. 상기 제2 가수분해에 의해 셀룰로오스의 결정형 부분이 가수분해될 수 있다. 구체적으로, 상기 제2 가수분해는 170 ℃ 내지 200 ℃에서 2 분 내지 5분 동안 산에 의해 수행될 수 있으며, 상기 산은 제1 가수분해와 동일하거나 상이한 것을 사용할 수 있으며, 예를 들어, H_2SO_4, HCl, HBr, HNO_3, CH_3COOH, HCOOH, $HClO_4$, H_3PO_4, 및 PTSA로 이루어진 군으로부터 선택된 단독 또는 이들의 혼합물을 사용할 수 있다. 구체적으로, 3 wt% 내지 5wt% 묽은 황산을 사용할 수 있다.

[0042] 제2 가수분해에 의해 생성된 당은 단당류일 수 있으며, 보다 구체적으로 글루코스일 수 있다. 상기 글루코스의 수율은 30 내지 40 %일 수 있다. 따라서, 제1 가수분해 및 제2 가수분해에 의해 60% 내지 80%의 높을 수율로 당을 생산할 수 있다.

[0043] 이와 같이 가수분해를 여러 단계로 나누어 진행함으로써 셀룰로오스를 효율적으로 분해할 수 있다. 또한, 가수분해를 다단계로 나누어 수행하면서, 각 단계에서 생성된 생성물을 분리한 후, 후속 가수분해를 실시하므로 반응 조건이 가혹한 후속 공정에 의해 생성물이 분해될 염려가 거의 없다.

[0044] 발효 단계(S130)는 제1 가수분해 및 제2 가수분해 에 의해 생성된 당을 미생물로 발효시켜 에탄올을 생산하는 단계이다. 구체적으로, 제2 가수분해 후에 고액분리를 통해 생성된 당을 고체로부터 분리하고 이를 제1 가수분해에 의해 생성된 당과 혼합한 뒤, 여기에 미생물을 접종하여 발효를 수행한다.

[0045] 상기 미생물은, 사카로마이세스(Saccharomyces), 캔디다(Candida), 트리코스포론(Trichosporon), 윅커하미아(Wickerhamia), 아쉬바이아(Ashbya), 블라스토마이세스(Blastomyces), 사이조사카로마이세스(Schizosaccharomyces), 사이테로마이세스(Citeromyces), 한세눌라(Hansenula), 지오트리컴(Geotrichum) 토루로프시스(Torulopsis), 크레브로테슘(Crebrothecium), 피키아(Pichia), 크립토코커스(Cryptococcus), 스포로보로마이세스(Sporobolomyces), 클로엑케라 (Kloeckera), 드바리오마이세스(Debaryomyces), 에노마이코프시스(Endomycopsis), 리포마이세스(Lipomyces), 로도스포리듐(Rhodosporidium), 브레타노마이세스

(Brettanomyces), 로도토룰라(Rhodotorula), 또는 클로스트리듐(Clostridium) 속에 속하는 것들을 사용할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니며, 상기 사카로마이세스는 사카로마이세스 세레비시애(Saccharomyces cerevisiae), 사카로마이세스 바이누스(Saccharomyces baynus), 또는 사카로마이세스 칼스베르겐시스(Saccharomyces carlsbergensis)등을 포함할 수 있다.

[0046] 이하, 실시예를 통하여 본 발명에 대해 보다 구체적으로 설명한다. 이는 본 발명의 설명을 위한 것일 뿐, 이로 인해 본 발명의 범위가 제한되지 않는다.

[0047] <분석 방법>

[0048] 1. 알긴산 분석법

[0049] 본 실험에서는 알긴산나트륨(Sigma Aldrich, USA)을 4.0(w/v)% Na_2CO_3 수용액에 넣어 1, 10, 30, 50 g/L의 농도로 각각 조제하고 140 ℃에서 15분 동안 반응시킨 후 RI detector(Waters 2414, Waters Co., USA)가 장착된 HPLC(Breeze HPLC system, Waters Co., USA)로 분석, 알긴산 농도와 비례적 관계를 가지는 알긴산 유래 단량체 피크들(Derivation A, B, C)을 확인하여(도 1 참조), 이 중 다른 물질의 검출 피크와 겹치지 않는 Derivation B의 Refractive index를 분별된 알긴산의 양을 평가하는 척도로 사용하였다.

[0050] 2. 글루칸(glucan) 분석법

[0051] 시료에 포함되어 있는 글루칸의 정량분석은 NREL/TP-510-42623에 따라 수행하였다. 준비된 시료 0.3 g과 72.0% H_2SO_4 수용액 3 mL를 test tube에 넣고 15~20분 간격으로 유리막대를 이용하여 저어주면서 30 ℃에서 2시간 동안 반응시켰다(1차 가수분해). 반응이 끝난 후 84 mL의 증류수를 가하여 산 농도를 4.0%로 낮추고 autoclave(8000-DSE, Nap Co., Korea)를 이용, 121 ℃에서 1시간 동안 반응시켰다(2차 가수분해). 2차 가수분해가 끝난 시료는 탄산칼슘 ($CaCO_3$)으로 중화한 후, RI detector(Waters 2414, Waters Co., USA)가 장착된 HPLC(Breeze HPLC system, Waters Co., USA)를 이용하여 분석하였다. 컬럼은 Aminex HPX-87H(300×7.8 mm), 이동상으로는 5 mM H_2SO_4 수용액을 사용하였으며, 흐름 속도는 0.5 mL/min, 컬럼과 검출기의 온도는 65 ℃, 50 ℃로 각각 설정하였다. 반응 중 분해되는 글루코스의 양을 보정하기 위한 표준물질로는 Sigma Aldrich사의 D-글루코스를 사용하였다.

[0052] <실시예 1 및 비교예 1 내지 4> 촉매의 평가

[0053] 하기 표 1과 같은 4 wt% 촉매 수용액에 다시마 파우더를 넣어 140 ℃에서 15분 동안 전처리를 수행하였으며, 반응 후 생성된 Derivation B의 Refractive index와 글루칸의 함량을 확인하였으며, 그 결과는 도 2에 나타내었다. 상기 다시마 파우더는 완도산 다시마를 45 ℃에서 24시간 건조하고 분체한 것을 사용하였다.

표 1

[0054]

	실시예 1	비교예 1	비교예 2	비교예 3	비교예 4
촉매	Na_2CO_3	H_2SO_4	HCl	NaOH	NH_4OH

[0055] 도 2를 참조하면, 비교예 1 내지 4의 결과로는 염기 촉매를 이용한 경우보다는 산 촉매를 이용하였을 때 더 높은 Derivation B의 Refractive index가 확인되었으며, H2SO4 촉매를 이용한 경우 가장 높은 Derivation B의 Refractive index를 나타내었다. Refractive index가 높을수록 분별된 알긴산의 양이 많다는 것을 의미한다. 그러나 산 촉매를 이용한 경우에는 glucose가 다량 추출되었으며, 염기 촉매들 중 NaOH와 NH4OH를 사용한 경우에도 glucose가 추출되는 경향이 확인되었다. 즉, 글루코스의 함량을 통해 전처리 공정시 알긴산만 분리되는 것이 아니라 글루코스도 추출되는 것을 알 수 있다. 그러나, 실시예 1의 경우 알긴산 분별 대비 글루코스의 손실이 작아 전처리 효율이 가장 높았다.

[0056] <실시예 2 및 비교예 5 내지 7> 바이오매스 입자 크기의 확인

[0057] 완도산 다시마를 분체하여 하기 표 2와 같은 크기로 분류한 후, 4 wt% Na2CO3 수용액을 촉매로 사용하여 140 ℃에서 15분 동안 전처리를 수행한 뒤, 그 결과를 도 3에 나타내었다.

표 2

[0058]

	실시예 2	비교예 5	비교예 6	비교예 7
입자크기(mesh)	≥8	8~14	14~30	≤30

[0059] 도 3을 참조하면, 입자 크기가 증가함에 따라 Derivation B의 Refractive index가 증가하는 것을 알 수 있다. 실시예 1의 촉매 입자를 사용한 경우 비교예 7의 촉매 입자를 사용한 경우와 비교하여 4.2배 높은 Refractive index를 확인할 수 있었다. 즉, 알긴산 분별이 더 많이 됨을 확인할 수 있다. 비교예 5 및 6의 촉매 입자를 사용하는 경우에도 상대적으로 낮은 Derivation B의 Refractive index가 관찰되었다. 이는 미세한 분말 형태로 인해 입자가 응집되는 현상이 발생하여 촉매와의 접촉면이 감소, 반응이 원활히 이루어지지 않았기 때문으로 판단된다.

[0060] <실시예 3 내지 7 및 비교예 8 및 9> 촉매 농도의 결정

[0061] 8 메시 이상의 다시마 촉매 입자를 사용하여 하기 표 3 농도의 Na_2CO_3 수용액을 촉매로 사용하여 140 ℃에서 15분 동안 전처리를 수행한 뒤, 그 결과를 도 4에 나타내었다.

표 3

[0062]

	실시예 3	실시예 4	실시예 5	실시예 6	실시예 7	비교예 8	비교예 9
농도(wt%)	5	6	7	8	10	3	12

[0063] 도 4를 참조하면, 실시예 3 내지 6은 비교예 8 및 9 보다 높은 Refractive index를 확인할 수 있었다. 즉, 알긴산 분별이 더 많이 됨을 확인할 수 있다. 또한, 6 내지 8 wt% 농도에서 우수한 결과를 나타내었으며, 7 wt% 의 농도에서 가장 높은 refractive index를 나타내었다.

[0064] <실시예 8 내지 12 및 비교예 10 및 11> 반응 온도의 결정

[0065] 하기 표 4와 같은 온도 조건에서 7 wt%의 Na_2CO_3 수용액을 촉매로 사용하여 15분 동안 전처리를 수행한 뒤, 그 결과를 도 5에 나타내었다.

표 4

[0066]

	실시예 8	실시예 9	실시예 10	실시예 11	실시예 12	실시예 10	실시예 11
온도(℃)	110	130	140	150	170	100	190

[0067] 도 5를 참조하면, 110 ℃ 내지 170 ℃의 온도에서 RI가 높게 나온 것으로 보아 알긴산의 분별이 가장 효율적으로 이루어진 것을 알 수 있다. 반면, 100 ℃ 또는 190 ℃에서는 알긴산의 분별 효율이 우수하지 못했다.

[0068] <실시예 13 내지 16 및 비교예 12 내지 14> 반응 시간의 결정

[0069] 하기 표 5와 같은 온도 조건에서 7 wt%의 Na_2CO_3 수용액을 촉매로 사용하여 140 ℃에서 하기 표 5의 시간 동안 전처리를 수행한 뒤, 그 결과를 도 6에 나타내었다.

표 5

[0070]

	실시예 13	실시예 14	실시예 15	실시예 16	비교예 12	비교예 13	비교예 14
시간(min)	20	30	40	70	10	100	110

[0071] 도 6을 참조하면, 20분 이상 반응시키는 경우 알긴산 분별효율이 현저히 상승하였으며 70 분을 초과하는 경우 오히려 알기산 분별 효율이 급격히 감소함을 알 수 있었다. 즉, 20 내지 70분을 반응시키는 경우 가장 높은 알긴산 분별 효율을 얻을 수 있었다.

[0072] <실시예 17 및 비교예 15> 당화 수율의 측정

[0073] 7 wt% 의 Na_2CO_3 수용액을 촉매로 사용하여 다시마를 140 ℃에서 35분 동안 전처리하고, 전처리된 다시마를 기질

로 효소가수분해를 수행하였다(실시예 17). 이 때, 효소로는 Celluclast (Novo Co., Denmark)와 Novozyme-188 (Novo Co., Denmark)를 사용하였다. 또한, 다시마를 0.5M H2SO4를 사용하여 12 시간 동안 산화(acidifying)하고, 이어서 7 wt%의 Na2CO3 수용액을 사용하여 상온에서 150분 동안 처리하여 알긴산을 추출 후 남은 잔류 고체물 시료(다시마)를 사용하여 효소가수분해를 수행하였다(비교예 15). 그 결과는 하기 표 6 및 도 7에 나타난 바와 같다. 표 6은 전처리 전과 후의 글루칸의 함량을 비교한 것이며, 도 7은 효소가수분해 결과를 나타낸 것이다.

표 6

[0074]

	전처리 전	실시예 17	비교예 15
glucan(%)	5.81	23.37	19.25

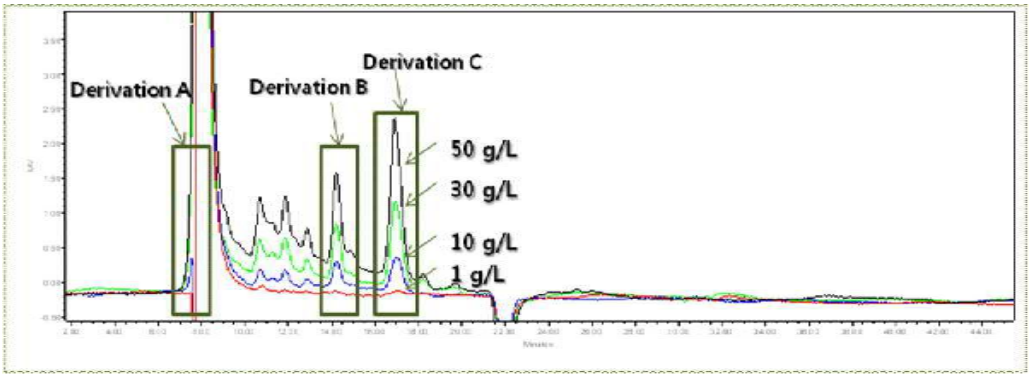
[0075] 표 6을 참조하면, Glucan 함량분석 결과, 실시예 17에서 알긴산 분별 후 남은 잔여고체물의 glucan 함량은 23.4%로 원 시료의 glucan 함량(5.8%)과 비교하여 약 4배 높은 값을 나타내었으며, Perez 방법으로 추출한 비교예 15의 잔여 고체물 시료(19.3%)보다도 약 0.8배 높은 값을 나타내어 본 발명의 알긴산 분별공정을 적용한 다시마가 바이오 연료 생산을 위한 바이오매스로서 활용 가능함을 확인하였다.

[0076] 또한, 도 7을 참조하면, 당화반응은 9시간 이내에 이루어졌으며, 실시예 17에서 전처리한 다시마 시료는 최대 65.3%의 효소소화도를 나타내어, 비교예 15의 방법으로 전처리한 다시마 시료와 비교하였을 때 약 17% 높은 효소소화도를 확인할 수 있었다. 또한, 대조군인 α-cellulose의 최대 효소소화도가 당화 36시간 후 67.4%임을 고려하면 본 발명의 실시예 17의 전처리 후의 다시마 시료는 상대적으로 빠른 시간 안에 효율적 당화가 이루어진 것으로 판단된다.

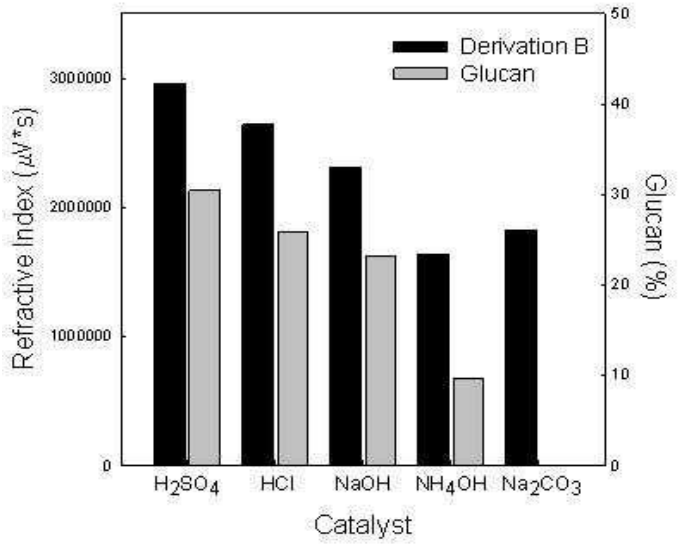
[0077] 이상 실험예를 참조하여 본 발명의 실시예를 설명하였지만, 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 그 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다.

도면

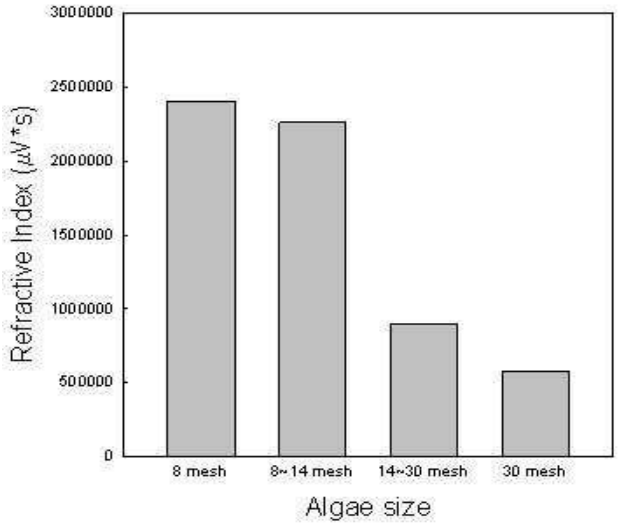
도면1



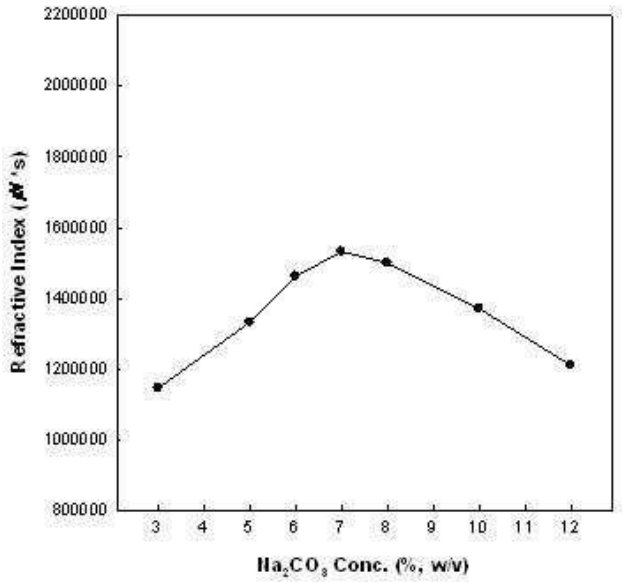
도면2


Derivation B
Glucan
Refractive Index (μV*s)
Glucan (%)
3000000
2000000
1000000
0
50
40
30
20
10
0
H2SO4
HCl
NaOH
NH4OH
Na2CO3
Catalyst

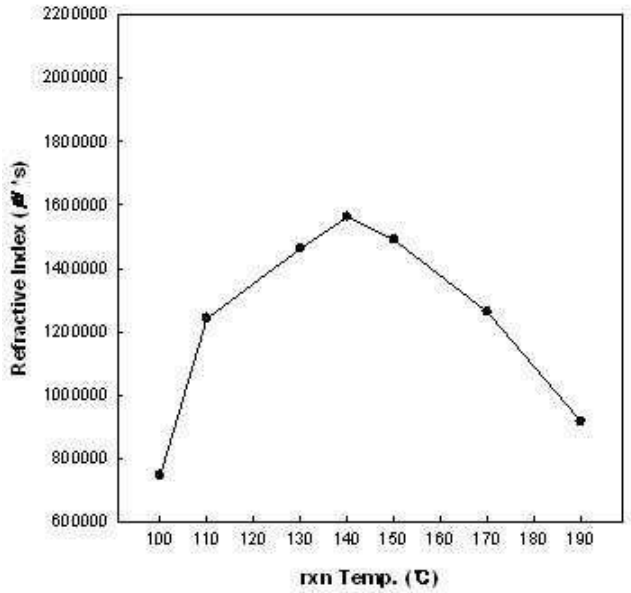
도면3


Refractive Index (μV*s)
3000000
2500000
2000000
1500000
1000000
500000
0
8 mesh
8~14 mesh
14~30 mesh
30 mesh
Algae size

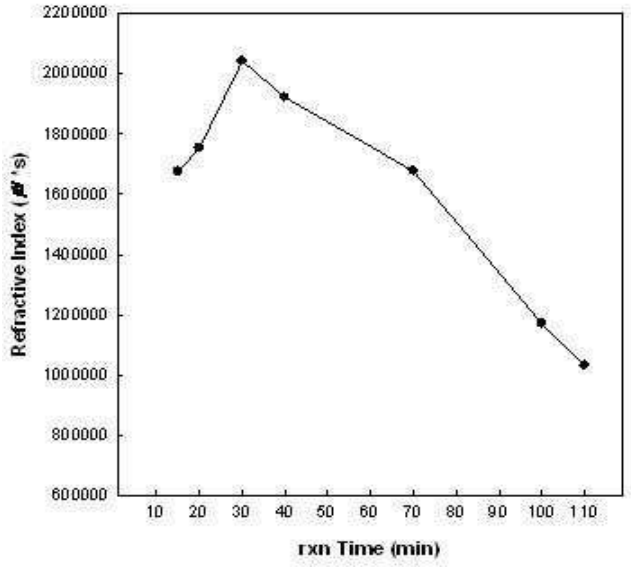
도면4


2200000
2000000
1800000
1600000
1400000
1200000
1000000
800000
Refractive Index (Å's)
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
Na2CO3 Conc. (%, w/v)

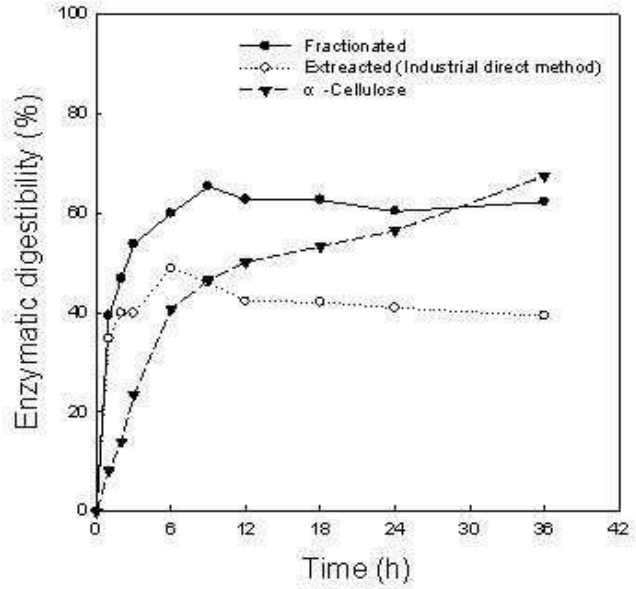
도면5


2200000
2000000
1800000
1600000
1400000
1200000
1000000
800000
600000
Refractive Index (Å's)
100
110
120
130
140
150
160
170
180
190
rxn Temp. (℃)

도면6


Refractive Index (Å's)
2200000
2000000
1800000
1600000
1400000
1200000
1000000
800000
600000
10 20 30 40 50 60 70 80 90 100 110
rxn Time (min)

도면7


Fractionated
Extreacted (Industrial direct method)
α -Cellulose
Enzymatic digestibility (%)
100
80
60
40
20
0
0 6 12 18 24 30 36 42
Time (h)