(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0116377
(43) 공개일자 2024년07월29일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12P 7/40 (2006.01) *C12N 15/70* (2006.01)
C12N 15/74 (2006.01) *C12N 9/02* (2006.01)
C12N 9/04 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C12P 7/40 (2022.01)
C12N 15/70 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2024-0003744
(22) 출원일자 2024년01월09일
심사청구일자 2024년01월09일
(30) 우선권주장
1020230008870 2023년01월20일 대한민국(KR)

(71) 출원인
서강대학교산학협력단
서울특별시 마포구 백범로 35 (신수동, 서강대학교)
(72) 발명자
오병근
서울특별시 마포구 모래내로9길 3, 106동 1506호
이진원
서울특별시 송파구 양재대로 1218, (방이동, 올림픽선수기자촌아파트) 201동 1601호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인에스알비

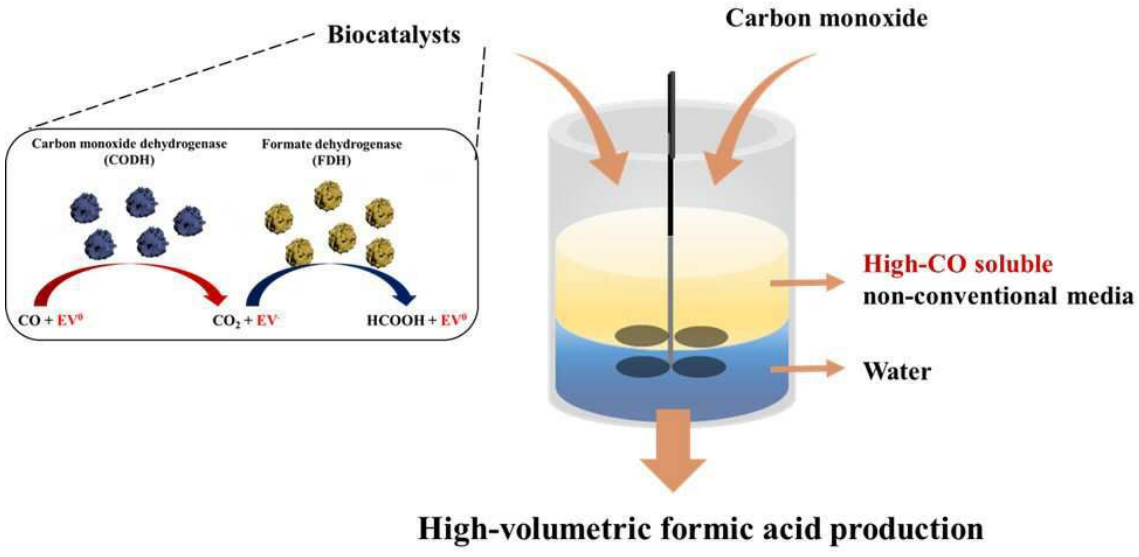
전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 **일산화탄소 고용해도 대체용매를 이용한 고속으로 일산화탄소를 전환시키는 반응시스템 및 방법**

(57) 요 약

본 발명은 일산화탄소 고용해도 대체용매를 이용한 고속으로 일산화탄소를 전환시키는 반응시스템 및 방법에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 반응기에 담긴 일산화탄소 고용해도 대체용매(High-CO soluble alternative solvent) 및 물을 포함하는 용액; 상기 용액 내에 주입되는 일산화탄소; 및 상기 용액 내에 주입되는 전-세포 생물 촉매(whole-cell biocatalyst)를 포함하며, 상기 일산화탄소 고용해도 대체용매는 부틸 아세테이트(butyl acetate), 헵탄(heptane), 옥탄(octane), 사이클로헥산(cyclohexane), 톨루엔(toluene), 에틸 아세테이트(ethyl acetate), 디클로로에탄(dichloroethane) 및 디에틸에테르(diethyl ether)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 또는 이들 중 2 이상의 혼합물인 것인, 일산화탄소 고용해도 대체용매를 이용한 고속으로 일산화탄소를 전환시키는 반응시스템 및 방법에 관한 것이다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
C12N 15/74 (2013.01)
C12N 9/0006 (2013.01)
C12N 9/0008 (2013.01)
C12Y 101/05006 (2013.01)
C12Y 102/07004 (2013.01)
(72) 발명자
나정걸
서울특별시 마포구 백범로 28, 서강제2빌딩 702호
조숙형
경기도 고양시 덕양구 화신로 340, 707동 304호
김태환
서울특별시 은평구 가좌로6길 17, 1층
이장섭
서울특별시 마포구 백범로 35, 신수동 서강대학교 곤자가국제학사 B동 1253호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711153913
과제번호 202332004
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 C1가스리파이너리사업
연구과제명 C1 가스 전환 기술 공통시험 연구
과제수행기관명 서강대학교
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 전문
과제수행기관명 서강대학교
연구기간 2023.01.01 ~ 2023.12.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

반응기에 담긴 일산화탄소 고용해도 대체용매(High-CO soluble alternative solvent) 및 물을 포함하는 용액;

상기 용액 내에 주입되는 일산화탄소; 및

상기 용액 내에 주입되는 전-세포 생물 촉매(whole-cell biocatalyst)를 포함하며,

상기 일산화탄소 고용해도 대체용매는 부틸 아세테이트(butyl acetate), 헵탄(heptane), 옥탄(octane), 사이클로헥산(cyclohexane), 톨루엔(toluene), 에틸 아세테이트(ethyl acetate), 디클로로에탄(dichloroethane) 및 디에틸에테르(diethyl ether)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 또는 이들 중 2 이상의 혼합물인 것인, 일산화탄소 고용해도 대체용매를 이용한 고속으로 일산화탄소를 전환시키는 반응시스템.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 용액은, 상기 일산화탄소 고용해도 대체용매 및 상기 물이 혼합되어 형성된 에멀젼(emulsion) 상태인 것인, 일산화탄소 고용해도 대체용매를 이용한 고속으로 일산화탄소를 전환시키는 반응시스템.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 일산화탄소 고용해도 대체용매 및 상기 물의 부피비는, 1:99 내지 99:1인 것인, 일산화탄소 고용해도 대체용매를 이용한 고속으로 일산화탄소를 전환시키는 반응시스템.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 전-세포 생물 촉매는, CODH를 포함하는 생물 촉매를 포함하는 것인, 일산화탄소 고용해도 대체용매를 이용한 고속으로 일산화탄소를 전환시키는 반응시스템.

청구항 5

(S10) 일산화탄소 고용해도 대체용매(High-CO soluble alternative solvent) 및 물을 포함하는 용액을 반응기에 주입하는 단계;

(S20) 상기 용액 내에 전-세포 생물 촉매(whole-cell biocatalyst)를 주입하는 단계; 및

(S30) 상기 용액 내에 일산화탄소를 주입하면서, 상기 용액을 교반시키는 단계를 포함하고,

상기 일산화탄소 고용해도 대체용매는 부틸 아세테이트(butyl acetate), 헵탄(heptane), 옥탄(octane), 사이클로헥산(cyclohexane), 톨루엔(toluene), 에틸 아세테이트(ethyl acetate), 디클로로에탄(dichloroethane) 및 디에틸에테르(diethyl ether)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 또는 이들 중 2 이상의 혼합물인 것인, 일산화탄소 고용해도 대체용매를 이용한 고속으로 일산화탄소를 전환시키는 방법.

청구항 6

제5항에 있어서,

상기 (S30) 단계의 상기 용액은, 상기 일산화탄소 고용해도 대체용매 및 상기 물이 혼합되어 형성된 에멀젼(emulsion) 상태인 것인, 일산화탄소 고용해도 대체용매를 이용한 고속으로 일산화탄소를 전환시키는 방법.

청구항 7

제5항에 있어서,

상기 (S30) 단계는, 교반속도가 200 RPM 내지 400 RPM인 것인, 일산화탄소 고용해도 대체용매를 이용한 고속으로 일산화탄소를 전환시키는 방법.

청구항 8

제5항에 있어서,

상기 일산화탄소 고용해도 대체용매 및 상기 물의 부피비는, 1:99 내지 99:1인 것인, 일산화탄소 고용해도 대체용매를 이용한 고속으로 일산화탄소를 전환시키는 방법.

청구항 9

제5항에 있어서,

상기 전-세포 생물 촉매는, CODH를 포함하는 생물 촉매를 포함하는 것인, 일산화탄소 고용해도 대체용매를 이용한 고속으로 일산화탄소를 전환시키는 방법.

청구항 10

제5항에 있어서,

상기 (S30) 단계 이후에 수행되며,

(S40) 교반이 완료된 용액이 일산화탄소 고용해도 대체용매층과 물층으로 분리되며, 상기 물층에 존재하는 포름산을 수득하는 단계를 더 포함하는 것인, 일산화탄소 고용해도 대체용매를 이용한 고속으로 일산화탄소를 전환시키는 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 일산화탄소 고용해도 대체용매를 이용한 고속으로 일산화탄소를 전환시키는 반응시스템 및 방법에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 고농도 일산화탄소를 녹일 수 있는 일산화탄소 고용해도 대체용매(High-CO soluble alternative solvent)를 포함하는 용액에서 전-세포 생물 촉매(whole-cell biocatalyst)를 이용하여 고속으로 일산화탄소를 포름산 등의 생성물로 전환시키는 반응시스템 및 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 가스 생물공정에서 기질로 가스가 사용되는 경우, 공급되는 가스가 부족하면 미생물 대사속도의 감소를 일으키기 때문에(Carbon-limited condition), 가스-액체 물질전달 속도가 공정의 생산속도를 결정하는 경우가 많다. 가스-액체 물질전달 속도는 다음의 수학식 1로 표현이 가능하다.

[0003] [수학식 1]

[0004] $$\frac{dC}{dt} = k_L a\left(C_{(g)}^{saturated} - C_{(g)}\right)$$

[0005] (상기 수학식 1에서, $\frac{dC}{dt} = Gas\ dissolution\ rate$ (가스-액체 물질전달 속도),

[0006] $k_L a = Mass - transfer\ coefficient * Gas - liquid\ interface\ area$ (volumetric mass transfer coefficient),

[0007] $C_{(g)}^{saturated} = Gas\ concentration\ saturated\ in\ liquid$ (용해도),

[0008] $C_{(g)} = Gas\ concentration\ in\ liquid$ 임)

[0009] 한편, 기존 생물공정의 물질전달 속도를 증가시키기 위한 연구들에서는, stirred tank reactor(STR), bubble column reactor(BCR), airlift reactor(ALR) 등의 생물반응기 개발을 통해 물질전달 상수($k_L a$)를 증가시켜 가스-액체 물질전달 속도를 높이려는 시도들이 있어 왔다.

[0010] 그러나, 이와 같은 반응기 개발에도 가스-액체 물질전달 속도는 여전히 물에 대한 특정 가스들(CO, CH_4, H_2)의 낮은 용해도로 인해 크게 개선될 수 없는 구조적 한계를 가지고 있다.

[0011] 용해도는 압력과 온도, 가스-액체 분자 상호작용에 따라 결정되는데, 생물 공정에서 온도는 실질적으로 바꿀 수 없고, 압력을 높여 용해도를 높이는 것은 비용 부담이 크며, 반응 용매에 따라 가스-액체 분자 상호작용을 고려하는 것이 가장 경제적/현실적이지만 사례가 거의 없다. 특히, CO 가스를 기질로 하여 포름산(formic acid)을 생산하는 생물공정에 있어서는, CO가 물에 녹는 가스-액체 물질전달 속도가 율속 단계인데, 다양한 반응 용매를 적용하였음에도 불구하고, 가스-액체 물질전달 속도를 개선한 사례는 없었다.

선행기술문헌

비특허문헌

[0012] (비특허문헌 0001) Stone, Kyle A., et al. "A mini review on bioreactor configurations and gas transfer enhancements for biochemical methane conversion." Biochemical engineering journal 128 (2017): 83-92.

(비특허문헌 0002) Hettiaratchi, Patrick, et al. "Recent advances of biomass waste to gas using landfill bioreactor technology-a review." Current Organic Chemistry 19.5 (2015): 413-422.

(비특허문헌 0003) Kraakman, Norbertus JR, Jose Rocha-Rios, and Mark CM van Loosdrecht. "Review of mass transfer aspects for biological gas treatment." Applied microbiology and biotechnology 91.4 (2011): 873-886.

(비특허문헌 0004) Krishna, R., and J. M. Van Baten. "Mass transfer in bubble columns." Catalysis today 79 (2003): 67-75.

Å(비특허문헌 0005) lvarez, E., et al. "Mass transfer and influence of physical properties of solutions in a bubble column." Chemical Engineering Research and Design 78.6 (2000): 889-893.

(비특허문헌 0006) Shimizu, K., et al. "Phenomenological model for bubble column reactors: prediction of gas hold-ups and volumetric mass transfer coefficients." Chemical engineering journal 78.1 (2000): 21-28.

(비특허문헌 0007) Ma, Zhen. "Solvent effect on CO oxidation as a novel diagnosing tool to pin down low-coverage CO at the liquid-solid interface: An in situ infrared study." Journal of colloid and interface science 304.2 (2006): 419-430.

(비특허문헌 0008) Xian-Liang Song, et al. "Effects of bmim[PF6] treatments with different concentrations on microbial activity of Saccharomyces cerevisiae." Korean Journal of Chemical Engineering 28 (2011): 1902-1907.

(비특허문헌 0009) S.G. Cull, et al. "Room-temperature ionic liquids as replacements for organic solvents in multiphase bioprocess operations." Biotechnology and bioengineering 69 (2000): 227-233.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0013] 본 발명이 해결하고자 하는 과제는, CO 가스를 잘 녹일 수 있으면서, 생물 공정에 적용 가능한 일산화탄소 고용해도 대체용매(High-CO soluble alternative solvent)의 조사 및 이를 적용한 시스템 개발을 통해, 가스-액체 물질전달 속도의 개선으로 포름산(formic acid) 등의 부피 생산성을 향상시킨, 일산화탄소 고용해도 대체용매를 이용한 고속으로 일산화탄소를 포름산(formic acid) 등의 생성물로 전환시키는 반응시스템 및 방법을 설계하고자 하는 것이다.

[0014] 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 통상의 기술자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0015] 본 발명의 일 측면에 따르면, 반응기에 담긴 일산화탄소 고용해도 대체용매(High-CO soluble alternative solvent) 및 물을 포함하는 용액; 상기 용액 내에 주입되는 일산화탄소; 및 상기 용액 내에 주입되는 전-세포 생물 촉매(whole-cell biocatalyst)를 포함하며, 상기 일산화탄소 고용해도 대체용매는 부틸 아세테이트(butyl acetate), 헵탄(heptane), 옥탄(octane), 사이클로헥산(cyclohexane), 톨루엔(toluene), 에틸 아세테이트(ethyl acetate), 디클로로에탄(dichloroethane) 및 디에틸에테르(diethyl ether)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 또는 이들 중 2 이상의 혼합물인 것인, 일산화탄소 고용해도 대체용매를 이용한 고속으로 이산화탄소를 전환시키는 반응시스템이 제공된다.

[0016] 여기서, 상기 용액은, 상기 일산화탄소 고용해도 대체용매 및 상기 물이 혼합되어 형성된 에멀젼(emulsion) 상태인 것일 수 있다.

[0017] 그리고, 상기 일산화탄소 고용해도 대체용매 및 상기 물의 부피비는, 1:99 내지 99:1인 것일 수 있다.

[0018] 또한, 상기 전-세포 생물 촉매는, CODH를 포함하는 생물 촉매를 포함하는 것일 수 있다.

[0019] 한편, 본 발명의 다른 측면에 따르면, (S10) 일산화탄소 고용해도 대체용매(High-CO soluble alternative solvent) 및 물을 포함하는 용액을 반응기에 주입하는 단계; (S20) 상기 용액 내에 전-세포 생물 촉매(whole-cell biocatalyst)를 주입하는 단계; 및 (S30) 상기 용액 내에 일산화탄소를 주입하면서, 상기 용액을 교반시키는 단계를 포함하고, 상기 일산화탄소 고용해도 대체용매는 부틸 아세테이트(butyl acetate), 헵탄(heptane), 옥탄(octane), 사이클로헥산(cyclohexane), 톨루엔(toluene), 에틸 아세테이트(ethyl acetate), 디클로로에탄(dichloroethane) 및 디에틸에테르(diethyl ether)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 또는 이들 중 2 이상의 혼합물인 것인, 일산화탄소 고용해도 대체용매를 이용한 고속으로 일산화탄소를 전환시키는 방법이 제공된다.

[0020] 여기서, 상기 (S30) 단계의 상기 용액은, 상기 일산화탄소 고용해도 대체용매 및 상기 물이 혼합되어 형성된 에멀젼(emulsion) 상태인 것일 수 있다.

[0021] 그리고, 상기 (S30) 단계는, 교반속도가 200 RPM 내지 400 RPM인 것일 수 있다.

[0022] 또한, 상기 (S30) 단계 이후에 수행되며, (S40) 교반이 완료된 용액이 일산화탄소 고용해도 대체용매층과 물층으로 분리되며, 상기 물층에 존재하는 포름산을 수득하는 단계를 더 포함하는 것일 수 있다.

발명의 효과

[0023] 본 발명에 따르면, CO 전환 바이오 공정을 기반으로 활용 가능한 CO 가스의 용해도가 향상된 새로운 일산화탄소 고용해도 대체용매(High-CO soluble alternative solvent)를 이용하는 반응시스템 및 방법을 통해 고속으로 일산화탄소를 포름산 등의 생성물로 전환시킬 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0024] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른, 일산화탄소 고용해도 대체용매(High-CO soluble alternative solvent)를 이용하여 일산화탄소를 포름산으로 전환시키는 반응시스템을 보여주는 개략도이다.

도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른, 일산화탄소 고용해도 대체용매를 이용하여 일산화탄소를 포름산으로 전환시키는 방법을 보여주는 개략도이다.

도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 CSTR 반응기 내에서의 교반속도별 용액의 모습을 보여주는 사진이다.

도 4는 일산화탄소 고용해도 대체용매와 물이 1:1의 부피비로 섞인 용액에서, 전-세포 생물 촉매의 3 시간 동안의 반응안정성을 보여주는 그래프이다.

도 5는 일산화탄소 고용해도 대체용매와 물이 1:1의 부피비로 섞인 용액에서, 고정되지 않은 효소(free enzyme)의 3 시간 동안의 반응안정성을 보여주는 그래프이다.

도 6은 선택된 일산화탄소 고용해도 대체용매와 물이 1:1의 부피비로 섞인 용액에서, 전-세포 생물 촉매의 5 일 동안의 반응안정성을 보여주는 그래프이다.

도 7은 serum vial에서, 일산화탄소 고용해도 대체용매를 사용하는 경우, 물에 비해 포름산의 생산속도가 크다

는 점을 보여주는 그래프이다.

도 8은 CSTR에서, 부틸 아세테이트와 물이 1:1의 부피비로 섞인 용액을 사용하는 경우, 물에 비해 포름산의 생산속도가 크다는 점을 보여주는 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0025] 이하, 첨부된 도면들을 참조하여 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있도록 본 발명의 실시예에 대하여 상세히 설명한다. 그러나 본 발명은 여러 가지 상이한 형태로 구현될 수 있으며 여기에서 설명하는 실시예에 한정되지 않는다. 또한, 본 명세서에서 특별히 정의되지 않은 용어들에 대해서는 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상적으로 사용되는 의미를 갖는 것으로 이해되어야 할 것이다.

[0026] 본 명세서에서 사용된 용어는 특정 실시예를 설명하기 위하여 사용되며, 본 발명을 제한하기 위한 것이 아니다. 본 명세서에서 사용되는 단수 형태의 용어는 문맥상 다른 경우를 분명히 지적하는 것이 아니라면, 복수의 형태를 포함할 수 있다. 또한, 본 명세서에서 사용되는 "포함한다(comprise)" 및/또는 "포함하는(comprising)"이라는 용어는 언급한 형상, 단계, 숫자, 동작, 부재, 요소 및/또는 이들 그룹의 존재를 특정하는 것이며, 하나 이상의 다른 형상, 단계, 숫자, 동작, 부재, 요소 및/또는 이들 그룹의 존재 또는 부가를 배제하는 것이 아니다. 또한, 본 명세서에서 사용된 "연결"이라는 용어는 어떤 부재들이 직접적으로 연결된 것을 의미할 뿐만 아니라, 부재들 사이에 다른 부재가 더 개재되어 간접적으로 연결된 것까지 포함하는 개념이다.

[0027] 아울러, 본원 명세서에서 어떤 부재가 다른 부재 "상에" 위치하고 있다고 할 때, 이는 어떤 부재가 다른 부재에 접해 있는 경우뿐 아니라 두 부재 사이에 또 다른 부재가 존재하는 경우도 포함한다. 본 명세서에서 사용된 용어 "및/또는"은 해당 열거된 항목 중 어느 하나 및 하나 이상의 모든 조합을 포함한다. 또한, 본원 명세서에서 사용되는 "약", "실질적으로" 등의 정도의 용어는 고유한 제조 및 물질 허용 오차를 감안하여, 그 수치나 정도의 범주 또는 이에 근접한 의미로 사용되고, 본원의 이해를 돕기 위해 제공된 정확하거나 절대적인 수치가 언급된 개시 내용을 침해자가 부당하게 이용하는 것을 방지하기 위해 사용된다.

[0028] CO를 CO_2로 전환하는 반응을 매개하는 carbon monoxide dehydrogenase(CODH) 효소를 지닌 재조합 *E.coli* BL21 균주와 CO_2를 포름산(formic acid)으로 전환하는 반응을 매개하는 formate dehydrogenase(FDH) 효소를 지닌 재조합 *methylobacterium extorquens* AM1 균주를 이용하여 CO 가스로부터 포름산(formic acid)을 생산함에 있어서, CO에 대해 높은 용해도를 갖는 일산화탄소 고용해도 대체용매(High-CO soluble alternative solvent)를 적용시킬 경우 가스-액체 물질전달 속도를 개선시킬 수는 있지만, 미생물은 물 기반 환경에서 살아가기 때문에 정확히 미생물에 어떠한 영향을 줄지는 미지수이다.

[0029] 따라서, 특정 매체가 *E.coli* BL21 균주와 *methylobacterium extorquens* AM1 균주에 생물학적으로 이용가능한지 여부를 확인하여, CO 가스로부터 포름산을 고속으로 생산하는 공정에 적용할 수 있다.

[0030] CO 가스의 용액 내에서의 용해도(solubility)에 대한 조사를 기반으로, 여러 종류의 일산화탄소 고용해도 대체용매에 대한 환경적/경제적인 평가를 진행할 필요가 있고, 이러한 평가를 기반으로 선정된 일산화탄소 고용해도 대체용매에서의 생물공정에 대한 반응성/안정성에 대한 평가를 진행할 필요가 있다.

[0031] 이러한 평가를 통하여, 전-세포 생물 촉매(whole-cell biocatalyst)의 사용 가능성을 판단할 수 있고, 용액 독성(solvent toxicity)에 따라 전-세포 고정화(whole-cell immobilization)에 대한 검토가 이루어질 수도 있다.

[0032] 용액 내에서 CO의 용해도와 관련하여, 용액에 대한 용질의 용해도는 분자간 상호작용(molecular interaction)으로 결정되고, 분자간 상호작용에서 가장 크게 영향을 미치는 요소는 극성이다.

[0033] 비극성 용액에서 CO의 용해도가 높은 사례들이 발견되었고, 기본적으로 비극성 용액들 내에서 CO의 용해도가 높지만, 분자구조에 따라 더 높은 CO의 용해도를 가질 수 있다. 예를 들면, 긴 사슬 알케인(long-chain alkane)들의 경우 캐비티(cavity)에 CO가 달라붙을 수 있다.

[0034] 따라서, 비극성을 가진 용액들을 대상으로 후보군을 선정하고, 전-세포(whole-cell)에 대한 독성 평가를 진행할 수 있다.

[0035] 하기 표 1은 CO 용해도가 조사된 적이 있는 56개의 용매들을 보여준다.

표 1

[0036]

Category	solvent	[CO] mM (Solubility)	Condition
water		0.921	1 atm 303.15 K
Salt Solution (aqueous)	water	153.181	1 atm 303.15 K Copper (I) ammonium carbonate
	water	1.718 / 2.989 / 4.051/ 4.953	(62 / 141 / 239 / 369 mmHg) 293.15 K Copper(I) ammonium formate
Salt Solution (non-aqueous)	benzene	1.745 / 1.535	1 atm 303 K $CuAlCl_4$ (100 / 1000 M)
	toluene	2631.229	1 atm 293.15 K $CuAlCl_4$
	toluene	0.0866 / 0.875	303 K $CuAlCl_4$ (100 / 1000 M)
	1,2 -Dimethylbenzene	0.741	303 K $CuAlCl_4$ (1000 M)
Organic Solvents and water	methanol	417.264	5.06 Mpa 298 K
	acetic acid	148.245	5.06 Mpa 298 K
	methyl acetate	466.273	5.06 Mpa 298 K
N-Ethylethanamine, (diethylamine)			
	N,N-Diethylethanamine, (triethylamine)		
Saturated and Unsaturated Hydrocarbons	pentane	16.255	1 atm, 298K
n-alkane	hexane	13.592	
	Heptane	11.752	
	octane	9.165	
	nonane	8.915	
	decane	7.82	
	Cyclohexane	9.094	
	methylcyclohexane /	비슷	1 atm 298 K
	cis(and trans)-1,2-Dimethylcyclohexane	비슷	
	cyclooctane	6.326	1 atm 298 K
Aromatic hydrocarbons	Benzene	7.002	1 atm 298 K
	Toluene	7.504	1 atm 298 K
	Trimethylbenzene	6.419	1 atm 298 K
	Methanol	8.10377	1 atm 298 K
	benzene	7.601	1 atm 298 K
	Acetic acid	비슷	1 atm 298 K

Alcohol	Methanol	9.347	1 atm 303 K
	Ethanol	8.379	1 atm 303 K
	1-propanol	7.354	1 atm 303 K
	1-butanol	6.8	1 atm 303 K
	2-Methyl-1-propanol	7.07	1 atm 298 K
	2-propanol	7.917	1 atm 293 K
	2-butanol	6.888	1 atm 298 K
	1-pentanol	7	1 atm 298 K
	1-Hexanol		1 atm 298 K
	1-Heptanol	4.87	1 atm 298 K
	1-Octanol	4.8	1 atm 298 K
	1-Nonanol	4.55	1 atm 298 K
	1-Decanol	4.47	1 atm 298 K
	cyclohexanol	36.34	1 atm 298 K
	1-decanol and 1-dodecanol (equimolar)	5.8	1 atm 293 K
Ketones, Acids, Esters, Ethers	acetone	9.077	1 atm 298 K
	acetic acid	7.07	1 atm 298 K
	cyclohexanone	308	50 atm 313 K
	Methyl acetate	465.7	50 atm 298 K
	Oxybisethane	nd	1 atm 283 K
	1,4-Dioxane	5.68	1 atm 296 K
Organic compounds containing nitrogen	aniline	2.2	1 atm 298 K
	Nitrobenzene	3.8	1 atm 298 K
	pyridine	4.8	1 atm 298 K
	1,1-Dimethylhydrazine	7.7	1 atm 298 K
	Propanenitrile	9	1 atm 298 K
	Benzeneacetonitrile	3.1	1 atm 298 K
Other fluids	Octamethylcyclotetrasiloxane	10.5	1 atm 298 K

[0037] 상기 표 1에 나와 있는 CO 용해도가 조사된 적 있는 56개의 용액 중에서 고려대상이 되는 18개의 용액들을 하기 표 2에 나타내었다.

표 2

[0038]

	Solvent	CO solubility (mM)	EHS(Environmental, health and safety)
alcohol	cyclohexanol	36.34	2.976812548
n-alkane	pentane	16.255	4.075734191
	hexane	13.592	4.078301188
	Heptane	11.752	3.800457482
Ketones, Acids, Esters, Ethers	Ethyl acetate	10.36	2.89
Aromatic hydrocarbon	Benzene	7.002	4.234963509
	Toluene	7.504	3.303634283
n-alkane	Cyclohexane	9.094	3.973359459
Alcohol	Methanol	9.347	2.658903575
	Ethanol	8.379	2.56
	1-propanol	7.354	2.904567149
	1-butanol	6.8	3.03990716

Ketones, Acids, Esters, Ethers	cyclohexanone	6.16	3.265413892
	Methyl acetate	9.314	2.441849921
	butyl acetate	9.7	2.546483243
	isopropyl acetate	9.873	2.764615511
	1,4-Dioxane	5.68	4.973142336
	acetone	9.077	3.114155134

[0039] 참고로, 상기 표 2에서, cyclohexanol, pentane, hexane, Heptane, Ethyl acetate의 경우, 물과 비교하여, CO의 용해도가 10 내지 50 배 정도로 증가된 결과를 보여주고, 나머지인 Benzene, Toluene, Cyclohexane, Methanol, Ethanol, 1-propanol, 1-butanol, cyclohexanone, Methyl acetate, butyl acetate, isopropyl acetate, 1,4-Dioxane, acetone의 경우에도, 물과 비교하여, CO의 용해도가 4 내지 10배 정도로 증가된 결과를 보여준다.

[0041] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른, 일산화탄소 고용해도 대체용매(High-CO soluble alternative solvent)를 이용하여 일산화탄소를 포름산으로 전환시키는 반응시스템을 보여주는 개략도이고, 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른, 일산화탄소 고용해도 대체용매를 이용하여 일산화탄소를 포름산으로 전환시키는 방법을 보여주는 개략도이다.

[0042] 도 1 및 도 2를 참조하면, 본 발명의 일 측면에 따른 일산화탄소 고용해도 대체용매를 이용한 고속으로 일산화탄소를 전환시키는 반응시스템은, 반응기에 담긴 일산화탄소 고용해도 대체용매(High-CO soluble alternative solvent) 및 물을 포함하는 용액; 상기 용액 내에 주입되는 일산화탄소; 및 상기 용액 내에 주입되는 전-세포 생물 촉매(whole-cell biocatalyst)를 포함하며, 상기 일산화탄소 고용해도 대체용매는 부틸 아세테이트(butyl acetate), 헵탄(heptane), 옥탄(octane), 사이클로헥산(cyclohexane), 톨루엔(toluene), 에틸 아세테이트(ethyl acetate), 디클로로에탄(dichloroethane) 및 디에틸에테르(diethyl ether)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 또는 이들 중 2 이상의 혼합물인 것을 특징으로 한다.

[0043] 이때, 상기 대체용매는 상기 8종의 용매로 한정되는 것은 아니다. 그리고, 상기 대체용매는, 더욱 구체적으로는 부틸 아세테이트, 헵탄, 옥탄, 사이클로헥산일 수 있다.

[0044] 여기서, 상기 일산화탄소 고용해도 대체용매는 CO에 대한 용해도가 높아서, 반응시스템 내에서 고속으로 일산화탄소를 포름산 등의 생성물로 전환시킬 수 있는 장점이 있다.

[0045] 반응이 일어나기 전에는 상기 일산화탄소 고용해도 대체용매는 물과 섞이지 않고 분리되어 형성되어 있을 수 있다. 반응시스템이 작동하면서 교반이 시작되면 상기 용액은, 상기 일산화탄소 고용해도 대체용매 및 상기 물이 혼합되어 하나의 상처럼 존재하는 상태로 보이도록 형성된 에멀젼(emulsion) 상태가 될 수 있다. 도 2에서 용액 내에 존재하는 점들은 포름산을 나타낸다. 일산화탄소를 포름산으로 전환시키는 반응이 빠른 속도로 일어나게 하기 위해서는 일산화탄소 고용해도 대체용매와 물을 교반시켜 상기 용액을 전술한 에멀젼 상태로 만들 필요가 있다. 이후, 반응시스템의 작동이 멈추면, 다시 물과 일산화탄소 고용해도 대체용매가 분리되며, 이때, 포름산은 물에 다량 녹아 있게 되며, 추후 쉽게 분리가 가능하다.

[0046] 한편, 상기 일산화탄소 고용해도 대체용매 및 상기 물의 부피비는, 1:99 내지 99:1인 것일 수 있으나, 이에만 한정되는 것은 아니다.

[0047] 그리고, 상기 전-세포 생물 촉매는, 일산화탄소 전환을 위한 CODH를 포함하는 생물 촉매일 수 있고, 이러한 CODH를 포함하는 생물 촉매는 *E.coli* BL21 균주 및 *Methylobacterium extorquens* AM1 균주를 포함하는 것일 수 있으나, 이에만 한정되는 것은 아니다.

[0048] 한편, 본 발명의 다른 측면에 따른 일산화탄소 고용해도 대체용매를 이용한 일산화탄소를 전환시키는 방법은, (S10) 일산화탄소 고용해도 대체용매(High-CO soluble alternative solvent) 및 물을 포함하는 용액을 반응기에 주입하는 단계; (S20) 상기 용액 내에 전-세포 생물 촉매(whole-cell biocatalyst)를 주입하는 단계; 및 (S30) 상기 용액 내에 일산화탄소를 주입하면서, 상기 용액을 교반시키는 단계를 포함하고, 상기 일산화탄소 고용해도 대체용매는 부틸 아세테이트(butyl acetate), 헵탄(heptane), 옥탄(octane), 사이클로헥산(cyclohexane), 톨루엔(toluene), 에틸 아세테이트(ethyl acetate), 디클로로에탄(dichloroethane) 및 디에틸

에테르(diethyl ether)로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 또는 이들 중 2 이상의 혼합물인 것을 특징으로 한다.

[0049] 여기서, 상기 대체용매는 상기 8종의 용매로 한정되는 것은 아니다. 그리고, 상기 대체용매는, 더욱 구체적으로는 부틸 아세테이트, 헵탄, 옥탄, 사이클로헥산일 수 있다.

[0050] 이때, 상기 (S30) 단계의 상기 용액은, 전술한 바와 같이 상기 일산화탄소 고용해도 대체용매 및 상기 물이 혼합되어 형성된 에멀젼 상태일 수 있다.

[0051] 도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 CSTR 반응기 내에서의 교반속도별 용액의 모습을 보여주는 사진이다. 도 3을 참조하면, 파란색을 나타내는 층이 물층이고, 투명한 층이 일산화탄소 고용해도 대체용매층이다. CSTR 반응기에서 100 RPM으로 교반하였을 때 에멀젼 형성이 이루어지지 않았다. 하지만, 300 RPM으로 교반하였을 때 두 상이 균일하게 섞여 에멀젼이 형성되었음을 확인할 수 있다. 따라서, 상기 (S30) 단계는, 교반속도가 200 RPM 내지 400 RPM인 것, 구체적으로는 250 RPM 내지 350 RPM 정도, 더욱 구체적으로는 300 RPM 정도에서 공정을 수행하는 것이 적절할 수 있다.

[0052] 그리고, 상기 (S30) 단계 이후에 수행되며, (S40) 교반이 완료된 용액이 일산화탄소 고용해도 대체용매층과 물층으로 자연스럽게 분리되며, 상기 물층에 다량 존재하고 있는 포름산을 수득하는 단계를 더 포함할 수 있다.

[0053] 도 4는 일산화탄소 고용해도 대체용매와 물이 1:1의 부피비로 섞인 용액에서, 전-세포 생물 촉매의 3 시간 동안의 반응안정성을 보여주는 그래프이고, 도 5는 일산화탄소 고용해도 대체용매와 물이 1:1의 부피비로 섞인 용액에서, 고정되지 않은 효소(free enzyme)의 3 시간 동안의 반응안정성을 보여주는 그래프이다. 도 4 및 도 5를 참조하면, 아래 표 3에 기재된 실험 조건으로 전-세포 생물 촉매와 고정되지 않은 효소가 포함된 용액 내에서의 반응 안정성을 평가하는 실험을 진행하였다.

표 3

[0054]

실험 조건	
Working buffer	water:solvent = 1:1 solution
Electron mediator	ethyl viologen 10 mM
Whole-cell	*E.coli* BL21: 2.4 mg/mL (CODH 2.4 U/mL) *M.extorquens* AM1: 8 mg/mL (FDH 1.2 U/mL)

[0055] 일산화탄소 고용해도 대체용매와 물이 1:1의 부피비로 섞인 용액에서, 생물 촉매 전-세포(whole-cell, 도 4)와 고정되지 않은 효소(free enzyme)의 3 시간 동안의 반응안정성을 관찰한 결과, 전-세포의 경우 밑줄 친 8 종의 용매에서 3 시간 반응 안정성을 보였으며, 고정되지 않은 효소의 경우 Control(물) 샘플을 제외하고는 안정한 조건이 없었다. 즉, 전-세포 생물 촉매를 사용함과 동시에, 특정의 용매, 즉, 톨루엔, 에틸 아세테이트, 부틸 아세테이트, 헵탄, 옥탄, 사이클로헥산, 디클로로에탄, 디에틸에테르를 포함하는 반응 용액을 사용한 경우에 포름산 전환 반응의 안정성이 우수하다는 점을 확인하였다. 도 6은 상기 8 종의 용매 중에서 선택된 일산화탄소 고용해도 대체용매와 물이 1:1의 부피비로 섞인 용액에서, 전-세포 생물 촉매의 5 일 동안의 반응안정성을 보여주는 그래프이다. 도 6을 참조하면, 아래 표 4에 기재된 실험 조건으로 전-세포 생물 촉매가 포함된 용액 내에서의 반응 안정성을 평가하는 실험을 진행하였다.

표 4

[0056]

실험 조건	
Working volume	20 mL in 125 mL serum vial
buffer	water:solvent = 5:5 solution (1) Control: (200 mM bis-tris propane buffer) (2) Toluene (3) Ethyl acetate (4) Butyl acetate (5) Heptane (6) Octane (7) Cyclohexane (8) Dichloroethane (9) Diethyl ether

Electron mediator	ethyl viologen 30 mM
Whole-cell	*E.coli* BL21: 0.24 mg/mL (CODH 0.24 U/mL) *M.extorquens* AM1: 8 mg/mL (FDH 1.2 U/mL)
Substrate	Syngas 2.0 bar

[0057] 전-세포 생물 촉매 대상으로 3 시간 반응 안정성을 보인 8 종의 용매 중에서, 6 종을 선택하여 5 일 동안의 반응 안정성을 조사하였다. 직선형을 나타내며, 시간에 비례하여 꾸준하게 포름산이 증가할 경우, 해당 용매에 대해 반응 안정성을 보인다고 할 수 있다. 즉, 부틸 아세테이트, 헵탄, 옥탄, 사이클로헥산의 경우가 직선형을 나타내므로, 상기 4종의 일산화탄소 고용해도 대체용매에서 전-세포 생물 촉매가 안정적이라고 판단되었다. 도 7은 serum vial에서, 일산화탄소 고용해도 대체용매를 사용하는 경우, 물에 비해 포름산의 생산속도가 크다는 점을 보여주는 그래프이다. 도 7을 참조하면, 아래 표 5에 기재된 실험 조건으로 전-세포 생물 촉매가 포함된 용액 내에서의 포름산의 생산속도와 포름산의 부피생산성을 평가하는 실험을 진행하였다.

표 5

[0058]

실험 조건	
Working volume	50 mL in 125 mL serum vial
Electron mediator	ethyl viologen 10 mM
Whole-cell	*E.coli* BL21: 12 mg/mL (CODH 60 U/mL) *M.extorquens* AM1: 40 mg/mL (FDH 30 U/mL)

[0059] 일산화탄소 고용해도 대체용매를 사용할 경우, CO 용해도와 CO 전달 속도가 비례하기 때문에, 높은 CO 전달 속도가 나타나게 된다. CO 전달 속도가 율속단계(rate limiting step)인 공정에 적용될 경우, CO 전달 속도의 증가치와 비례하여 포름산의 생산성을 증가할 수 있다.

표 6

[0060]

Reaction media (solvent:water = 1:1 solution)	Theoretical N_{co}^{*}(%)	Formic acid productivity(%)
Control(water)	100	100
Ethyl acetate	578	573
Butyl acetate	544	662
Toluene	432	688

[0061] 표 6을 참조하면, 각 용매들의 이론적인 CO 전달 속도 증가치(%)와, 상기 실험 결과에 따른 포름산의 생산 속도 증가치(%)를 확인할 수 있다. 이론적인 CO 전달 속도 증가치와 비견될 만큼의 포름산 생산 속도 증가치를 확인하였으며, 일산화탄소 고용해도 대체용매의 사용시, 실제로 포름산의 부피 생산성이 증가하였음을 확인하였다. 도 8은 CSTR에서, 부틸 아세테이트와 물이 1:1의 부피비로 섞인 용액을 사용하는 경우, 물에 비해 포름산의 생산속도가 크다는 점을 보여주는 그래프이다. 도 8을 참조하면, 아래 표 7에 기재된 실험 조건으로 해당 용액을 이용한 포름산의 부피생산성을 평가하는 실험을 진행하였다.

표 7

[0062]

실험 조건	
Reaction buffer	1) Water (200 mM BTP) 2) Water:Butyl acetate = 1:1 solution
Working volume	300 mL in 2.5 L CSTR
Electron mediator	ethyl viologen 20 mM
Enzyme loading	CODH 15 U/mL FDH 80 U/mL
Substrate	Syngas ($CO:CO_2:N_2$=50:15:35) 2 vvm
Temperature	30 ℃

표 8

[0063]

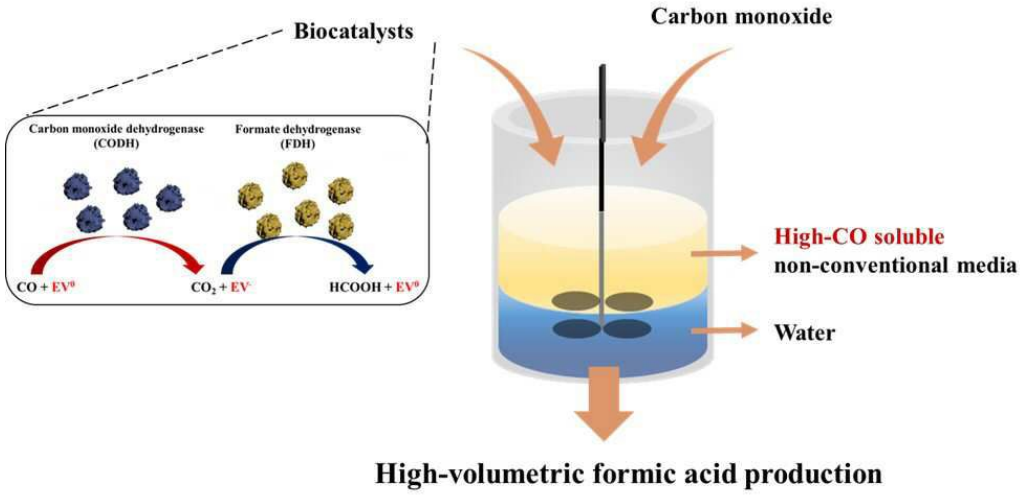
Reaction media (solvent:water = 1:1 solution)	C_{co}^{*}(mM) (문헌)	k_La (hr^{-1})	Theoretical N_{co}^{*}(mM/hr)
Control(water)	0.98	73.1 (1.6)	36
Butyl acetate	5.33	80.5 (1.3)	222

[0064] 표 7 및 표 8을 참조하면, 상기 실험조건에서의 이론적인 CO 전달속도는 222 mM/hr로 계산되며, 실제 포름산의 부피 생산성(volumetric productivity) 증가는 이와 비견되는 211 mM/hr로 측정돼, 반응기 운영조건에서도 CO 용해도 증가를 통해 생산물의 부피 생산성이 증가함을 확인할 수 있다. 한편, 표 5와 표 7의 실험 조건을 비교하여 살펴보면, 표 5의 실험 조건에서는 반응시스템 자체의 물질전달 상수(k_La)가 낮은 serum vial에서, 표 7의 실험 조건에서는 상대적으로 더 높은 물질전달 상수(k_La)를 가지는 CSTR에서 실험이 진행되었다. 도 7 및 도 8을 참조하면, 상대적으로 더 높은 물질전달 상수를 가지는 CSTR에서 대체용매를 사용하였을 때, 포름산의 부피 생산성 증가 폭이 더욱 크다는 점을 확인할 수 있다.

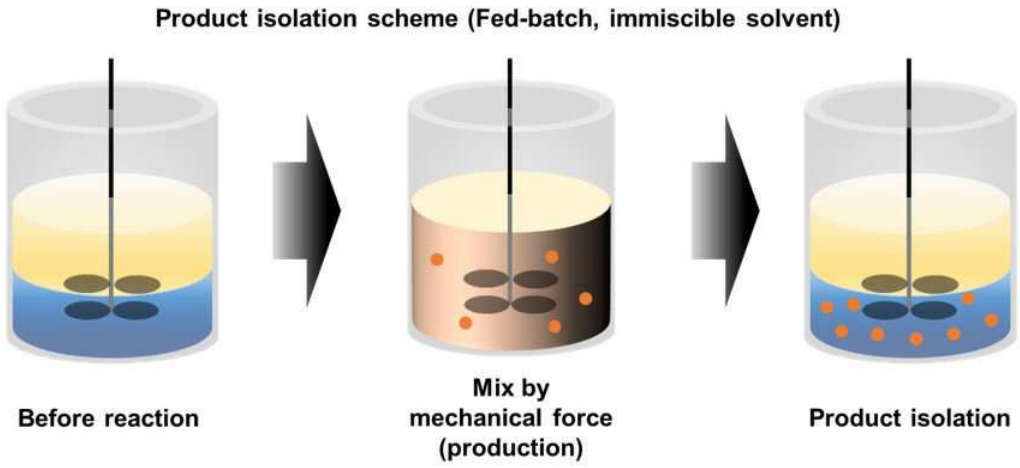
[0066] 본 명세서에서는 본 발명의 바람직한 실시예에 대하여 개시하였으며, 비록 특정 용어들이 사용되었으나, 이는 단지 본 발명의 기술 내용을 쉽게 설명하고 발명의 이해를 돕기 위한 일반적인 의미에서 사용된 것이지, 본 발명의 범위를 한정하고자 하는 것은 아니다. 여기에 개시된 실시예 외에도 본 발명의 기술적 사상에 바탕을 둔 다른 변형예들이 실시 가능하다는 것은 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 자명한 것이다. 따라서, 발명의 범위는 설명된 실시예에 의하여 정하여질 것이 아니고 청구범위에 기재된 기술적 사상에 의해 정해져야 한다.

도면

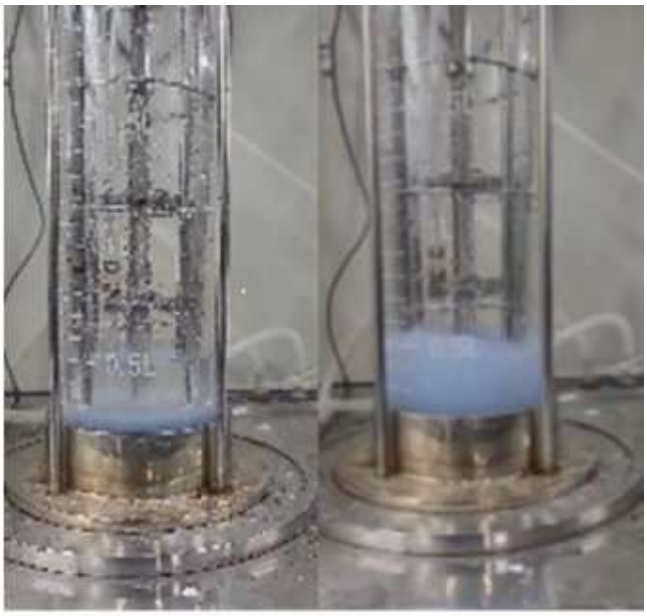
도면1



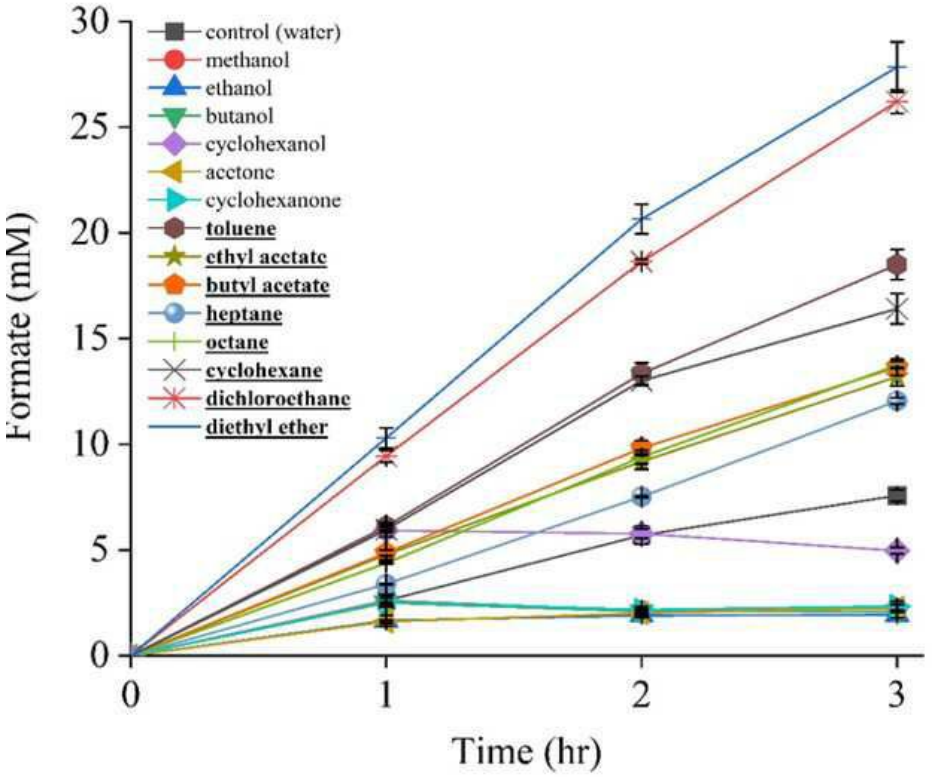
도면2


Product isolation scheme (Fed-batch, immiscible solvent)
Before reaction
Mix by
mechanical force
(production)
Product isolation

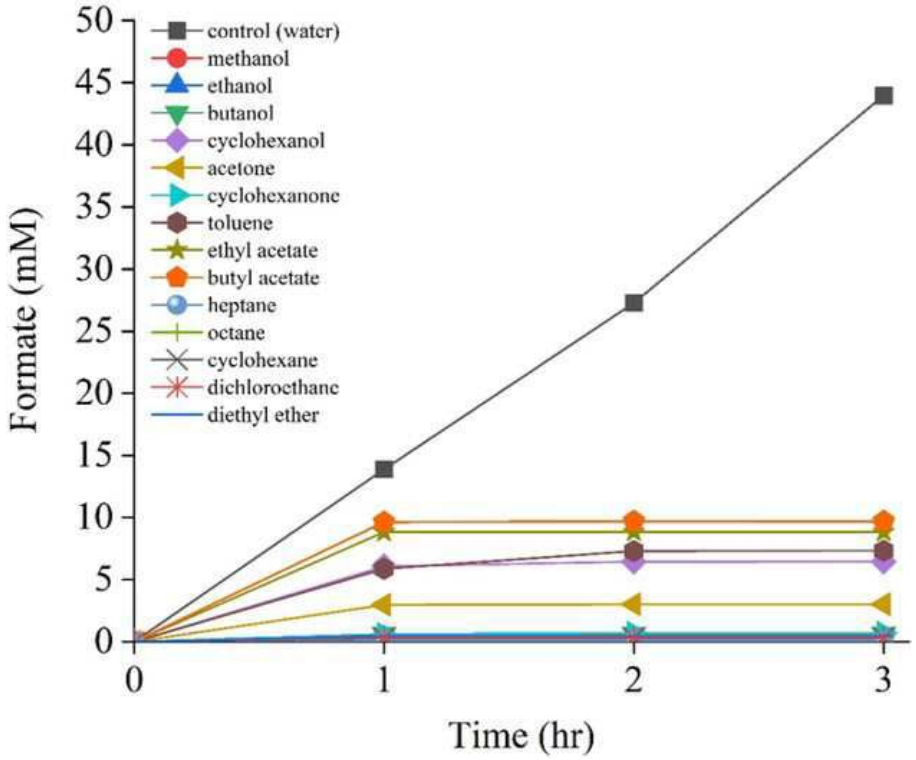
도면3


100 RPM
300 RPM
CSTR

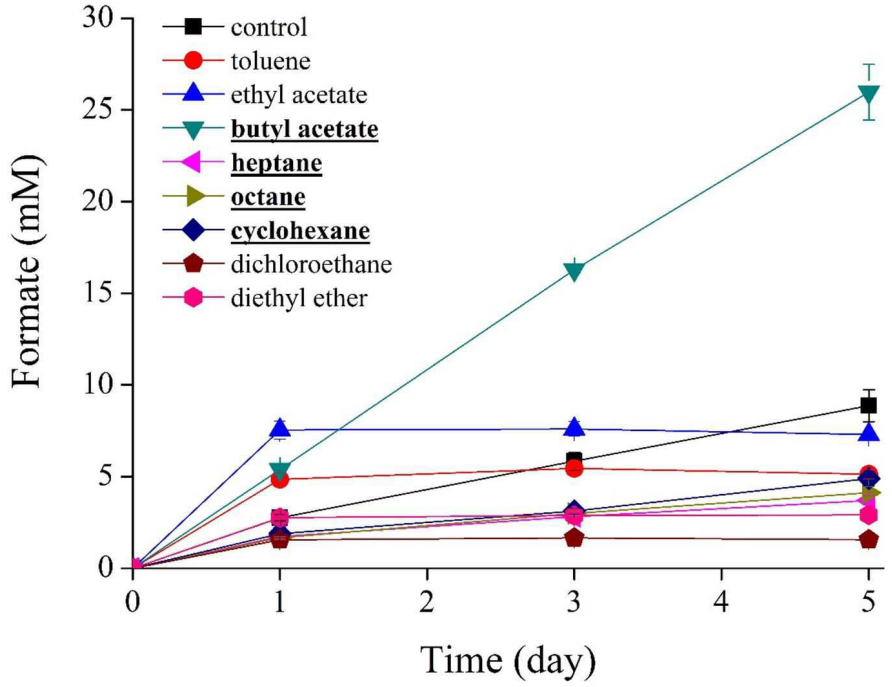
도면4


control (water)
methanol
ethanol
butanol
cyclohexanol
acetone
cyclohexanone
toluene
ethyl acetate
butyl acetate
heptane
octane
cyclohexane
dichloroethane
diethyl ether
Formate (mM)
Time (hr)
0
5
10
15
20
25
30
0
1
2
3

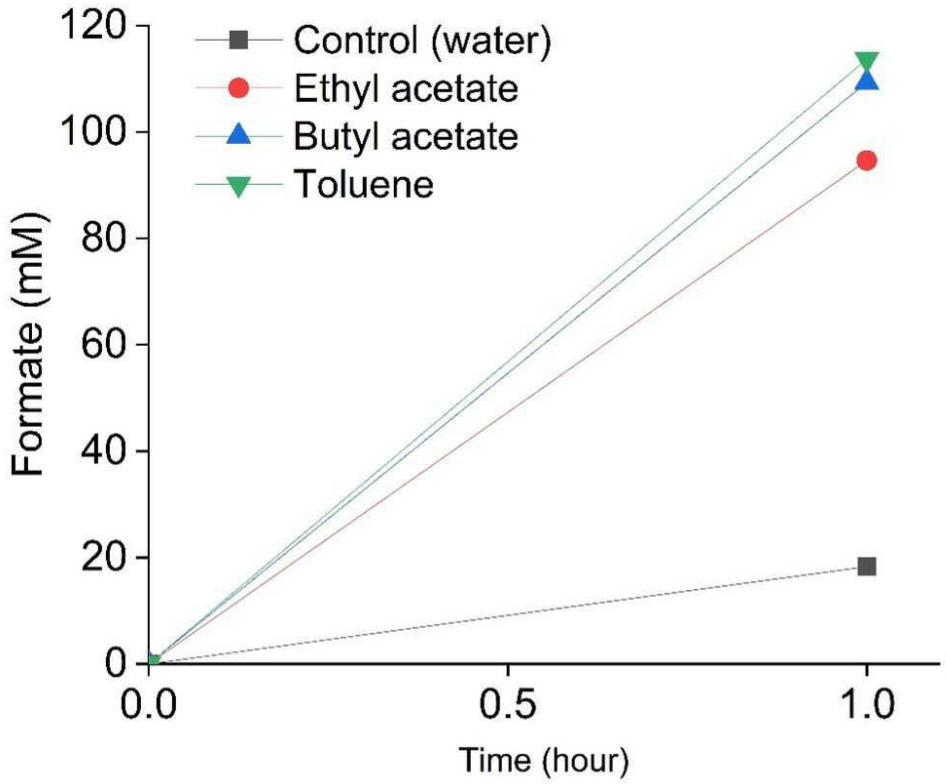
도면5


control (water)
methanol
ethanol
butanol
cyclohexanol
acetone
cyclohexanone
toluene
ethyl acetate
butyl acetate
heptane
octane
cyclohexane
dichloroethane
diethyl ether
Formate (mM)
Time (hr)
0
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
0
1
2
3

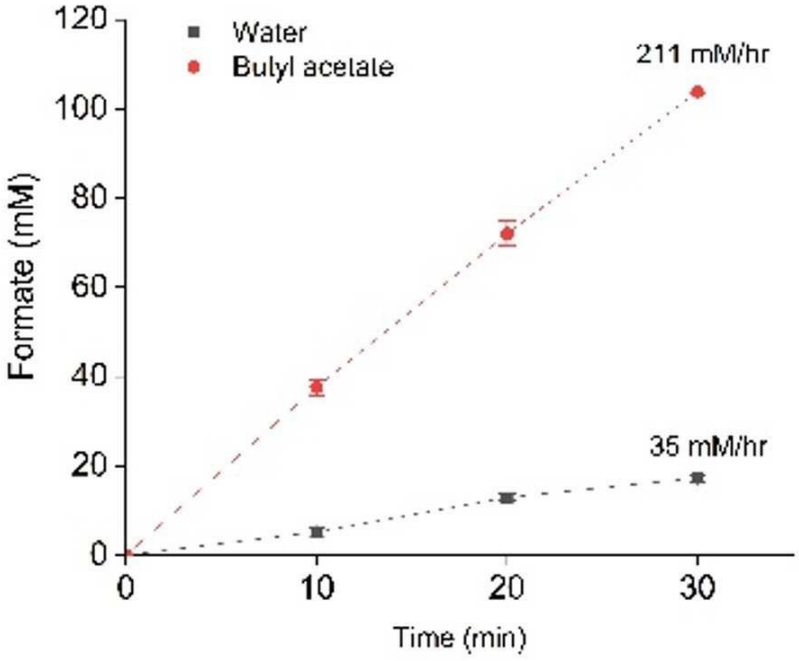
도면6


control
toluene
ethyl acetate
butyl acetate
heptane
octane
cyclohexane
dichloroethane
diethyl ether
Formate (mM)
Time (day)
0
5
10
15
20
25
30
0
1
2
3
4
5

도면7


Control (water)
Ethyl acetate
Butyl acetate
Toluene
Formate (mM)
Time (hour)
0
20
40
60
80
100
120
0.0
0.5
1.0

도면8


Water
Butyl acetate
211 mM/hr
35 mM/hr
Formate (mM)
Time (min)
120
100
80
60
40
20
0
0
10
20
30