



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2018년02월07일
(11) 등록번호 10-1826276
(24) 등록일자 2018년01월31일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12P 7/06 (2006.01) C01B 33/12 (2006.01)
C01G 49/02 (2006.01) C12N 1/38 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C12P 7/06 (2013.01)
C01B 33/12 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2016-0057952
(22) 출원일자 2016년05월12일
심사청구일자 2016년05월12일
(65) 공개번호 10-2017-0128647
(43) 공개일자 2017년11월23일
(56) 선행기술조사문헌
KR1020140126795 A*
(뒷면에 계속)

(73) 특허권자
환경대학교 산학협력단
경기도 안성시 석정동 67
(72) 발명자
김영기
경기도 성남시 분당구 탄천로 35, 505동 904호 (이매동, 아름마을풍림아파트)
이하령
경기도 김포시 양촌읍 황금로 90-3, 412호
오병근
서울특별시 은평구 서오릉로 258, 102동 501호 (갈현동, 우남아파트)
(74) 대리인
특허법인충현

전체 청구항 수 : 총 12 항

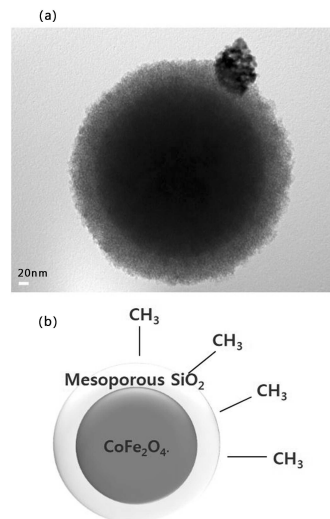
심사관 : 류민정

(54) 발명의 명칭 나노입자를 이용한 바이오알코올의 생산수율 향상방법

(57) 요약

본 발명은 합성가스를 발효시켜 바이오알코올을 생산하는 방법에 관한 것으로서 상기 발효를 상기 발효를 위한 배양액에 소수성 치환기로 표면개질된 코어/셸 구조의 나노입자를 첨가하는 것을 특징으로 하는 바이오알코올의 생산수율 향상방법 및 바이오알코올 수율 증대용 소수성 치환기로 표면개질된 코어/셸 구조의 나노입자에 관한 것이다.

대표도 - 도2



(52) CPC특허분류

C01G 49/02 (2013.01)

C12N 1/38 (2013.01)

C01P 2004/64 (2013.01)

(56) 선행기술조사문헌

KR1020140097266 A*

KR101455227 B1

KR1020130045024 A

CN103714929 A

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 NRF-2014R1A1A2A10056124

부처명 교육부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 이공분야기초연구지원사업

연구과제명 나노입자기반 기체기질 물질전달 개선에 의한 바이오에너지 생산 생물공정 효율 향상

기 여 율 50/100

주관기관 환경대학교 산학협력단

연구기간 2014.11.01 ~ 2017.04.30

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2017M3D3A1A01037006

부처명 과학기술정보통신부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 원천기술개발사업(C1가스리파이너지사업)

연구과제명 C1 가스 활용 미생물 기반 C2 알코올 생산 시스템 개발

기 여 율 50/100

주관기관 서강대학교 산학협력단

연구기간 2017.04.01 ~ 2017.12.31

공지예외적용 : 있음

명세서

청구범위

청구항 1

합성가스를 발효시켜 바이오알코올을 제조하는 방법에 있어서,

상기 발효를 위한 배양액에 소수성 치환기로 표면개질된 코어/셸 구조의 나노입자를 첨가하며,

상기 코어/셸 나노입자는 에탄올 수용액, 수산화암모늄, 테트라에틸 오르토실리케이트 및 트리메톡시(옥타데실)실란을 혼합한 후 소성시켜 실리카를 제조하는 단계; 및 코발트 전구체, 니켈 전구체, 망간 전구체 및 마그네슘 전구체로 이루어진 군에서 선택된 1종의 금속 전구체, 철 전구체 및 상기 소성된 실리카를 혼합하여 초음파 처리하고 환류 후 소성시킴으로써 코어/셸 구조로 금속 산화물/실리카가 형성된 나노입자를 제조하는 단계;를 포함하여 제조되며,

상기 소성된 실리카 1 중량부에 대하여 코발트 전구체, 니켈 전구체, 망간 전구체 및 마그네슘 전구체로 이루어진 군에서 선택된 1종의 금속 전구체 0.05 내지 0.2 중량부 및 철 전구체 0.1 내지 0.5 중량부로 혼합되는 것을 특징으로 하는 바이오알코올의 생산수율 향상방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 소수성 치환기로 표면개질된 코어/셸 구조의 나노입자는 탄소수 1 내지 4의 알킬기로 표면개질된 코어/셸 구조의 나노입자인 것을 특징으로 하는 바이오알코올의 생산수율 향상방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 소수성 치환기로 표면개질된 코어/셸 구조의 나노입자는 메틸기로 표면개질된 코어/셸 구조의 나노입자인 것을 특징으로 하는 바이오알코올의 생산수율 향상방법.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 코어는 하기 [화학식 1]로 표시되는 금속산화물인 것을 특징으로 하는 바이오알코올의 생산수율 향상방법;

[화학식 1]



상기 화학식 1에서, M은 Co, Ni, Mn, 및 Mg로 이루어진 군에서 선택되는 금속 원자임.

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 코발트 전구체, 니켈 전구체, 망간 전구체 및 마그네슘 전구체로 이루어진 군에서 선택된 1종의 금속 전구체와 철 전구체는 1 : 2 내지 5의 중량비로 혼합되는 것을 특징으로 하는 바이오알코올의 생산수율 향상방법.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 소수성 치환기로 표면개질된 코어/셸 구조의 나노입자의 평균입경은 100 내지 500 nm인 것을 특징으로 하는 바이오알코올의 생산수율 향상방법.

청구항 9

제1항에 있어서, 상기 배양액 100 중량부를 기준으로 상기 소수성 치환기로 표면개질된 코어/셀 구조의 나노입자 0.1 내지 1 중량부를 상기 배양액에 첨가하는 것을 특징으로 하는 바이오알코올의 생산수율 향상방법.

청구항 10

제1항에 있어서, 상기 합성가스는 수소, 일산화탄소 및 이산화탄소 중에서 선택되는 어느 하나의 가스 또는 2 이상이 혼합된 가스인 것을 특징으로 하는 바이오알코올의 생산수율 향상방법.

청구항 11

제1항에 있어서, 상기 합성가스는 석탄 또는 바이오매스를 가스화시킴으로써 제조되는 것을 특징으로 하는 바이오알코올의 생산수율 향상방법.

청구항 12

제1항에 있어서, 상기 합성가스는 폐가스 또는 배가스를 방사선 조사, 초음파 분해 및 열분해 중에서 선택된 방법으로 처리하여 제조되는 것을 특징으로 하는 바이오알코올의 생산수율 향상방법.

청구항 13

제1항에 있어서, 상기 배양액은 크로스트리듐 융달리(*Clostridium ljungdahlii*), 크로스트리듐 써모아세트쿰(*Clostridium thermoaceticum*), 크로스트리듐 아세트쿰(*Clostridium aceticum*), 아세트박테리움 우디(*Acetobacterium woodii*), 써모아나에로박테리움 키뷔(*Thermoanaerobacterium kivui*), 부티리박테리움 메티로트로피쿰(*Butyribacterium methylotrophicum*), 크로스트리듐 아세트부티리쿰(*Clostridium acetobutylicum*), 크로스트리듐 포르미카세트쿰(*Clostridium formicaceticum*), 크로스트리듐 클루이베리(*Clostridium kluyveri*), 크로스트리듐 테르모셀룸(*Clostridium thermocellum*), 크로스트리듐 테르모사카로리티쿰(*Clostridium thermosaccharolyticum*), 유박테리움 리모섬(*Eubacterium limosum*) 및 펩토스트렙토코커스 프로덕터스(*Peptostreptococcus productus*) 중에서 선택되는 1종 이상이 포함된 것을 특징으로 하는 바이오알코올의 생산수율 향상방법.

청구항 14

제1항에 있어서, 상기 바이오알코올은 에탄올인 것을 특징으로 하는 바이오알코올의 생산수율 향상방법.

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 신규한 나노입자를 배양에 적용하여 합성가스의 기-액 물질전달을 향상시킴으로써 배양을 통해 바이오알코올의 생산성을 향상시키는 방법 및 상기 바이오알코올의 생산성을 향상시키기 위해 소수성 치환기로 표면개질된 코어/셀 구조의 나노입자에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 바이오에너지는 화석연료를 대체할 수 있는 가능성을 가진 에너지로서 최근 가장 널리 개발, 활용되고 있다. 특

히 목질계 바이오매스 기반의 에탄올 생산기술은 그 원재료가 풍부하고 다양하다는 장점을 가지고 있다.

[0003] 목질계 바이오매스로부터 바이오에탄올을 생산하는 주요 방법은 당화-발효공정과 가스화-발효공정이 있는데, 당화-발효공정은 전처리된 목질계 바이오매스를 가수분해를 통해 당화시킨 후 발효공정을 거쳐 에탄올을 생산하는 것이다. 가스화-발효공정은 목질계 바이오매스를 가스화시켜 일산화탄소, 이산화탄소, 수소로 구성된 합성가스를 생산하고, 이것을 발효시켜 에탄올을 생산한다. 당화-발효공정은 미생물 발효에 사용될 당 단량체를 생산하기 위해 복잡한 전처리와 가수분해 과정이 요구되어 시간적, 비용적 측면에서 단점을 가지고 있다. 이에 반해 가스화-발효공정은 당화과정이 필요하지 않아 상대적으로 간단한 공정을 통해 에탄올을 얻을 수 있는 장점을 가지고 있다. 또한 합성가스를 연소시켜 전기나 열에너지 공급원으로 사용할 수 있기 때문에 가스화 공정은 열/전력 생산에도 독립적으로 이용되고 있다. 합성가스 생산을 위한 원료는 목질계 바이오매스 뿐 아니라 유기성 폐기물로 확장가능하다.

[0004] 특히, 합성가스를 이용한 유용물질의 생산에 관한 연구는 극히 제한적이다. 합성가스를 이용하여 유용물질을 생산하기 위한 방법으로 화학적 방법인 촉매반응을 사용할 경우, 적은 양의 불순물에도 매우 민감하게 반응하므로, 많은 양의 불순물을 포함한 합성가스로부터 합성유 등의 유용물질을 생산하기 위해서는 정제과정이 반드시 필요하다. 그러나 생물학적 방법을 적용할 경우 촉매반응에서와 같이 고순도의 반응물질을 필요로 하지 않기 때문에 추가적인 정제과정 없이 합성가스를 바로 이용할 수 있으며, 반응조건이 상온, 상압에서 이루어지기 때문에 초기 투자비 및 운전비용이 낮은 장점이 있다.

[0005] 이산화탄소, 일산화탄소 및 수소는 호기성 혹은 혐기성 미생물에 의하여 여러가지 물질로 전환되며, 혐기성 미생물 중에는 일산화탄소, 이산화탄소, 수소를 기질로 하여 에탄올을 생산할 수 있는 것도 보고되고 있다. 특히 *Clostridium ljungdahlii*, *Eubacterium limosum*, *Peptostreptococcus productus* 등은 이러한 미생물들 중 대표적인 것들이다.

[0006] 그러나, 생물학적 전환반응의 주요 기질인 이산화탄소, 일산화탄소, 수소가 기체상 물질이며 용해도가 극히 낮기 때문에 미생물이 이를 활용하기는 매우 어려워 이를 이용한 유기산이나 에탄올과 같은 바이오 알코올로 전환되는 효율은 극히 미미한 수준으로 대규모 공정에 적용되기 어렵다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) 대한민국 등록특허 제1490113호
(특허문헌 0002) 대한민국 등록특허 제0777841호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명의 목적은 신규한 나노입자를 배양에 적용하여 합성가스의 기-액 물질전달을 향상시킴으로써 배양을 통해 바이오알코올의 생산성을 향상시키는 방법을 제공하는데 있다.

[0009] 또한, 본 발명의 다른 목적은 상기 바이오알코올의 생산성을 향상시키기 위해 소수성 치환기로 표면개질된 코어/셸 구조의 나노입자를 제공하는데 있다.

[0010] 또한, 본 발명의 다른 목적은 나노입자의 회수 및 재사용을 용이하게 하기위하여 자성을 가지는 금속산화물로 코어를 구성한 코어/셸 구조의 나노입자를 제공하는데 있다.

과제의 해결 수단

[0011] 상기한 목적을 달성하기 위한 본 발명의 바이오알코올 생산수율을 향상시키는 방법은 합성가스를 발효시켜 바이오알코올을 제조하는 방법에 있어서,

[0012] 상기 발효를 위한 배양액에 소수성 치환기로 표면개질된 코어/셸 구조의 나노입자를 첨가하며, 상기 코어/셸 나노입자의 코어는 금속산화물이고, 상기 셸은 실리카(이산화규소)일 수 있다.

- [0013] 상기 소수성 치환기로 표면개질된 코어/셸 구조의 나노입자는 탄소수 1 내지 4의 알킬기로 표면개질된 코어/셸 구조의 나노입자일 수 있으며, 바람직하게는 메틸기로 표면개질된 코어/셸 구조의 나노입자일 수 있다.
- [0014] 상기 코어는 하기 [화학식 1]로 표시되는 금속산화물일 수 있다;
- [0015] [화학식 1]
- [0016] MFe_2O_4
- [0017] 상기 화학식 1에서, M은 Co, Ni, Mn, 및 Mg로 이루어진 군에서 선택되는 금속 원자임.
- [0018] 상기 소수성 치환기로 표면개질된 코어/셸 구조의 나노입자는 에탄올 수용액, 수산화암모늄, 테트라에틸 오르토 실리케이트 및 트리메톡시(옥타데실)실란을 혼합한 후 소성시켜 실리카를 제조하는 단계; 및
- [0019] 코발트 전구체, 니켈 전구체, 망간 전구체 및 마그네슘 전구체로 이루어진 군에서 선택된 1종의 금속 전구체, 철 전구체 및 상기 소성된 실리카를 혼합하여 초음파 처리하고 환류 후 소성시킴으로써 코어/셸 구조로 금속 산화물/실리카이 형성된 나노입자를 제조하는 단계;를 포함할 수 있다.
- [0020] 상기 소성된 실리카 1 중량부에 대하여 코발트 전구체, 니켈 전구체, 망간 전구체 및 마그네슘 전구체로 이루어진 군에서 선택된 1종의 금속 전구체 0.05 내지 0.2 중량부 및 철 전구체 0.1 내지 0.5 중량부로 혼합될 수 있으며; 상기 코발트 전구체, 니켈 전구체, 망간 전구체 및 마그네슘 전구체로 이루어진 군에서 선택된 1종의 금속 전구체와 철 전구체는 1 : 2 내지 5의 중량비로 혼합될 수 있다.
- [0021] 상기 소수성 치환기로 표면개질된 코어/셸 구조의 나노입자의 평균입경은 100 내지 500 nm일 수 있다.
- [0022] 상기 배양액 100 중량부를 기준으로 상기 소수성 치환기로 표면개질된 코어/셸 구조의 나노입자 0.1 내지 1 중량부를 상기 배양액에 첨가할 수 있다.
- [0023] 상기 합성가스는 수소, 일산화탄소 및 이산화탄소 중에서 선택되는 어느 하나의 가스 또는 2 이상이 혼합된 가스일 수 있다.
- [0024] 상기 합성가스는 석탄 또는 바이오매스를 가스화시킴으로써 제조될 수 있으며; 상기 합성가스는 폐가스 또는 배가스를 방사선 조사, 초음파 분해 및 열분해 중에서 선택된 방법으로 처리하여 제조될 수 있다.
- [0025] 상기 배양액은 크로스트리덤 융달리(*Clostridium ljungdahlii*), 크로스트리덤 써모아세트icum(*Clostridium thermoaceticum*), 크로스트리덤 아세트icum(*Clostridium aceticum*), 아세트박테리움 우디(*Acetobacterium woodii*), 써모아나에로박테리움 키뷔(*Thermoanaerobacterium kivui*), 부티리박테리움 메티로트로피쿰(*Butyribacterium methylotrophicum*), 크로스트리덤 아세트부티리쿰(*Clostridium acetobutylicum*), 크로스트리덤 포르미카세트icum(*Clostridium formicaceticum*), 크로스트리덤 클루이베리(*Clostridium kluyveri*), 크로스트리덤 테르모셀룸(*Clostridium thermocellum*), 크로스트리덤 테르모사카로리쿰(*Clostridium thermosaccharolyticum*), 유박테리움 리모섬(*Eubacterium limosum*) 및 펩토스트렙토코커스 프로덕투스(*Peptostreptococcus productus*) 중에서 선택되는 1종 이상이 포함된 것일 수 있다.
- [0026] 상기 바이오알코올은 에탄올일 수 있다.
- [0027] 또한, 상기한 다른 목적을 달성하기 위한 본 발명의 소수성 치환기로 표면개질된 코어/셸 구조의 나노입자는 합성가스를 발효시켜 바이오알코올을 생산하는데 이용되는 나노입자로서,
- [0028] 상기 발효를 위해 배양액에 첨가되며, 상기 소수성 치환기로 표면개질된 코어/셸 구조의 상기 코어는 금속산화물이며, 상기 셸은 실리카(이산화규소)일 수 있다.

발명의 효과

- [0029] 본 발명에 따르면, 친수성인 실리카 나노입자 등에 소수성 작용기로 표면개질을 통해 나노입자의 친수성 정도를 조절함으로써 각 기-액 물질전달을 향상시킬 수 있으므로 합성가스를 발효시켜 바이오알코올을 생산하는 방법에 이를 적용함으로써 바이오알코올 생산수율을 증대시킬 수 있다.
- [0030] 또한, 금속산화물/실리카가 코어/셸 구조로 형성된 나노입자를 이용함으로써 기-액 물질전달을 더욱 향상시켜 높은 생산수율로 바이오알코올을 생산할 수 있을 뿐만 아니라 자석을 이용하여 쉽게 재활용할 수 있으며 재활용 시에도 우수한 기-액 물질전달 특성을 유지한다.

도면의 간단한 설명

- [0031] 도 1a는 $\text{CoFe}_2\text{O}_4/\text{SiO}_2$ 나노입자를 TEM(transmission electron microscopy)으로 촬영한 사진이며, 도 1b는 상기 $\text{CoFe}_2\text{O}_4/\text{SiO}_2$ 나노입자의 모식도이다.
- 도 2a는 실시예 1의 $\text{CoFe}_2\text{O}_4/\text{SiO}_2\text{-CH}_3$ 나노입자를 TEM으로 촬영한 사진이며, 도 2b는 상기 실시예 1의 $\text{CoFe}_2\text{O}_4/\text{SiO}_2\text{-CH}_3$ 나노입자의 모식도이다.
- 도 3a는 CoFe_2O_4 및 $\text{CoFe}_2\text{O}_4/\text{SiO}_2$ 나노입자를 XRD로 측정한 그래프이며, 도 3b는 메조포러스 실리카, $\text{CoFe}_2\text{O}_4/\text{SiO}_2$ 나노입자 및 실시예 1의 $\text{CoFe}_2\text{O}_4/\text{SiO}_2\text{-CH}_3$ 나노입자의 포화 자기화를 나타낸 그래프이다.
- 도 4는 비교예 1의 SiO_2CH_3 및 실시예 1의 $\text{CoFe}_2\text{O}_4/\text{SiO}_2\text{CH}_3$ 나노입자 적용에 의한 CO , CO_2 , 및 H_2 의 용존농도 변화를 나타낸 그래프이다.
- 도 5는 실시예 1의 $\text{CoFe}_2\text{O}_4/\text{SiO}_2\text{CH}_3$ 나노입자의 재사용 시 CO , CO_2 , 및 H_2 의 용존농도를 나타낸 그래프이다.
- 도 6은 비교예 1의 SiO_2CH_3 및 실시예 1의 $\text{CoFe}_2\text{O}_4/\text{SiO}_2\text{CH}_3$ 나노입자를 이용한 합성가스 발효시 생산되는 (a) 세포 건조 중량, (b) 에탄올 농도 및 (c) 아세트산 농도를 나타낸 그래프이다.
- 도 7은 실시예 1의 $\text{CoFe}_2\text{O}_4/\text{SiO}_2\text{CH}_3$ 나노입자를 재사용하여 합성가스 발효시 생산되는 (a) 세포 건조 중량, (b) 에탄올 농도 및 (c) 아세트산 농도를 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0032] 본 발명은 나노입자를 배양에 적용하여 합성가스의 기-액 물질전달을 향상시킴으로써 배양을 통해 바이오알코올의 생산성을 향상시키는 방법 및 상기 바이오알코올의 생산성을 향상시키기 위해 소수성 치환기로 표면개질된 코어/셸 구조의 나노입자에 관한 것이다.
- [0033] 기체-액체간 물질전달 반응에서 나노입자는 촉매 역할을 하게 되는데 기체 용해도가 증가하는 원리에 대해 Ruthiya는 3가지 메커니즘을 제시하였다.
- [0034] (1) Boundary layer mixing mechanism
- [0035] boundary layer mixing mechanism은 나노입자가 혼합되면서 액체 경계면에 충돌한다. 상기와 같이 액체 경계면에 충돌하면 액체 경계면이 바깥쪽으로 확장되면서 기체와 액체의 경계면 사이의 두께가 얇아지게 되고, 상기 두 상의 경계면 사이가 얇아지면서 액체 속으로 들어오는 기체의 저항이 줄어들면서 기체-액체간 물질전달이 향상된다.
- [0036] (2) Shuttling mechanism
- [0037] Shuttling mechanism은 두 상의 경계면 사이의 두께가 얇을 경우에 일어나는 현상으로서, 나노입자가 경계면에 충돌할 때 기체를 흡착시켜 혼합되어 입자가 움직일 때 액체 속으로 같이 들어오게 된다. 이러한 과정으로 액체 속의 기체 용해 농도가 높아진다.
- [0038] (3) Coalescence inhibition mechanism
- [0039] Coalescence inhibition mechanism은 입자가 기체 사이에서 결합을 저지하는 물질의 역할을 하고, 기체의 표면적 감소를 방해한다. 이에 기체와 액체의 접촉면적이 늘어나 부피 물질전달 계수(KLa)가 증가하고, 부피물질전달 계수는 물질전달 속도와 비례하므로 기-액 물질전달 속도가 향상될 수 있다.
- [0040] 이하, 본 발명을 상세하게 설명한다.
- [0041] 본 발명은 합성가스를 발효시켜 바이오알코올을 제조하는 방법에 있어서, 상기 발효를 위한 배양액에 소수성 치환기로 표면개질된 코어/셸 구조의 나노입자를 첨가한다.
- [0042] 상기 소수성 치환기로 표면개질된 코어/셸 구조의 나노입자에서 코어/셸 구조의 나노입자는 금속산화물의 코어

표면에 실리카의 셸이 형성된 구조이다.

- [0043] 상기 코어는 상기 [화학식 1]로 표시되는 금속산화물로서, M은 Co, Ni, Mn, 및 Mg로 이루어진 군에서 선택되는 금속 원자이며, 바람직하게 M은 Co이다.
- [0044] 일례로, 금속으로 Co를 사용한 경우의 상기 코어/셸 구조의 나노입자는 $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2$ 로 표시될 수 있다.
- [0045] 또한, 상기 코어/셸 구조의 나노입자는 탄소수 1 내지 4의 알킬기, 바람직하게는 반응시 입체장애가 적은 메틸기로 표면개질될 수 있다.
- [0046] 일례로, 표면개질을 메틸기로 수행한 경우의 표면개질된 코어/셸 구조의 나노입자는 $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-CH}_3$ 로 표시될 수 있다.
- [0047] 본 발명의 상기 메틸기로 표면개질된 코어/셸 구조의 나노입자는 에탄올 수용액, 수산화암모늄, 테트라에틸 오르토실리케이트 및 트리메톡시(옥타데실)실란을 혼합한 후 소성시켜 실리카를 제조하는 단계; 코발트 전구체, 니켈 전구체, 망간 전구체 및 마그네슘 전구체로 이루어진 군에서 선택된 1종의 금속 전구체, 철 전구체 및 상기 소성된 실리카를 혼합하여 초음파 처리하고 환류 후 소성시킴으로써 금속 산화물인 코어/실리카인 셸로 형성된 나노입자를 제조하는 단계; 및 상기 코어/셸 구조의 나노입자의 표면을 메틸기로 개질하는 단계;를 포함하여 제조된다.
- [0048] 상기 코어/셸 구조의 나노입자를 제조하는 단계에서, 상기 소성된 실리카 1 중량부에 대하여 코발트 전구체, 니켈 전구체, 망간 전구체 및 마그네슘 전구체로 이루어진 군에서 선택된 1종의 금속 전구체 0.05 내지 0.2 중량부, 바람직하게는 0.07 내지 0.13 중량부; 및 철 전구체 0.1 내지 0.5 중량부, 바람직하게는 0.15 내지 0.3 중량부로 혼합된다.
- [0049] 상기 소성된 실리카를 기준으로 코발트 전구체, 니켈 전구체, 망간 전구체 및 마그네슘 전구체로 이루어진 군에서 선택된 1종의 금속 전구체의 함량이 상기 하한치 미만이거나, 상기 상한치 초과인 경우에는 [화학식 1]로 표시되는 금속산화물의 형성이 어려울 수 있다.
- [0050] 또한, 상기 소성된 실리카를 기준으로 철 전구체의 함량이 상기 하한치 미만인 경우에는 자성을 띄지 않거나 약하여 자석을 이용한 재사용이 어려울 수 있으며, 상기 상한치 초과인 경우에는 [화학식 1]로 표시되는 금속산화물의 형성이 어려울 수 있다.
- [0051] 바람직하게, 상기 코발트 전구체, 니켈 전구체, 망간 전구체 및 마그네슘 전구체로 이루어진 군에서 선택된 1종의 금속 전구체와 철 전구체는 1 : 2 내지 5의 중량비로 혼합된다. 금속 전구체를 기준으로 철 전구체의 함량이 상기 하한치 미만인 경우에는 자성이 약하여 자석을 이용한 재사용이 어려울 수 있으며, 상기 상한치 초과인 경우에는 자성은 강하지만 [화학식 1]로 표시되는 금속산화물의 형성이 어려울 수 있다.
- [0052] 상기 금속전구체 종류로는 코발트(II) 질산 6수화물, 코발트 아세테이트, 니켈 아세테이트, 망간 아세테이트 및 마그네슘 아세테이트로 이루어진 군에서 선택된 1종을 들 수 있다.
- [0053] 또한, 상기 철 전구체로는 질산제이철9수화물을 들 수 있다.
- [0054] 본 발명의 소수성 치환기로 표면개질된 코어/셸 구조의 나노입자의 평균입경은 100 내지 500 nm, 바람직하게는 200 내지 400 nm, 더욱 바람직하게는 250 내지 300 nm이다. 촉매반응을 수행하기 위해서는 나노입자가 기체-액체 경계면 사이에 들어가야 하는데, 보통 기체-액체 경계층의 두께는 5 내지 25 μm 이므로 나노입자 크기가 상기 기체-액체 경계층의 두께와 같거나 작을 때 촉매반응이 우세하다.
- [0055] 본 발명에서 배양액에 첨가되는 소수성 치환기로 표면개질된 코어/셸 구조의 나노입자는 배양액 100 중량부 기준으로 0.1 내지 1 중량부, 바람직하게는 0.1 내지 0.5 중량부, 더욱 바람직하게는 0.2 내지 0.4 중량부이다. 상기 하한치 미만에서는 촉매로서의 활성이 거의 없으며 상기 상한치를 초과하더라도 더 이상 용해도가 증가하지 않는다.
- [0056] 본 발명에서 합성가스는 수소, 일산화탄소 및 이산화탄소로 구성되며 석탄 또는 바이오매스를 가스화시킴으로써 제조되거나 폐가스 또는 배가스를 방사전조사, 초음파분해 및 열분해 중의 하나 이상으로 처리하여 제조될 수 있다.
- [0057] 상기 바이오알코올을 생산하기 위한 미생물에는 혐기성 박테리아가 사용되며 크로스트리듐 용달리(*Clostridium ljungdahlii*), 크로스트리듐 써모아세트쿰(*Clostridium thermoaceticum*), 크로스트리듐 아세트쿰

(*Clostridium aceticum*), 아세트박테리움 우디(*Acetobacterium woodii*), 썬모아나에로박테리움 키뷔(*Thermoanaerobacterium kivui*), 부티리박테리움 메티로트로피쿰(*Butyribacterium methylotrophicum*), 크로스트리듐 아세토부티리쿰(*Clostridium acetobutylicum*), 크로스트리듐 포르미카세티쿰(*Clostridium formicaceticum*), 크로스트리듐 클루이베리(*Clostridium kluyveri*), 크로스트리듐 테르모셀룸(*Clostridium thermocellum*), 크로스트리듐 테르모사카로리티쿰(*Clostridium thermosaccharolyticum*), 유박테리움 리모섬(*Eubacterium limosum*) 및 펩토스트렙토코커스 프로덕터스(*Peptostreptococcus productus*)는 일산화탄소와 이산화탄소를 탄소원으로 하고 수소를 전자제공원으로 이용하여 에탄올과 아세트산을 생산하는 대표 생체촉매이다.

[0058] 또한, 본 발명은 바이오알코올의 생산수율 증대용 소수성 치환기로 표면개질된 코어/셸 구조의 나노입자를 제공할 수 있다.

[0059] 본 발명의 소수성 치환기로 표면개질된 코어/셸 구조의 나노입자는 금속산화물/실리카가 코어/셸 구조로 형성된 나노입자의 표면이 메틸기로 표면개질된 것으로서, 수용액 상의 합성가스 용존농도를 향상시키고, 발효공정의 반응속도를 향상시켜 바이오에탄올의 생산수율을 향상시킨다.

[0060] 본 발명의 소수성 치환기로 표면개질된 코어/셸 구조의 나노입자의 비표면적은 200 내지 500 m²/g, 바람직하게는 300 내지 400 m²/g이다. 이와 같이, 본 발명의 소수성 치환기로 표면개질된 코어/셸 구조의 나노입자의 비표면적이 높으므로 원하는 효과를 달성할 수 있다.

[0061] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시하나, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 범주 및 기술사상 범위 내에서 다양한 변경 및 수정이 가능함은 당업자에게 있어서 명백한 것이며, 이러한 변형 및 수정이 첨부된 특허청구범위에 속하는 것도 당연한 것이다.

[0062] **실시예 1. 메틸기로 표면개질된 코발트 페라이트 실리카 나노입자(CoFe₂O₄@SiO₂-CH₃)**

[0063] 메조포러스 실리카(SiO₂) 제조

[0064] 증류수 20 mL, 에탄올 150 mL 및 수산화 암모늄 용액 6 mL를 10분 동안 교반한 후 12 mL의 테트라오르토실리케이트를 상기 혼합물에 첨가하여 2시간 동안 추가 교반하여 반응이 완료되면 10 mL의 테트라에틸오르토실리케이트 및 4 mL의 트리메톡시(옥타데실)실란을 첨가하여 1.5시간 동안 추가 교반하였다. 이후, 상기 25 mL의 혼합물을 50 mL 코니칼 튜브에 투입하여 10분 동안 3000 rpm으로 원심분리하여 상청액은 버리고, 침전물은 불순물을 제거하기 위하여 에탄올로 3회 세척하였다.

[0065] 상기 세척된 침전물을 550 °C에서 6시간 동안 소성한 후 80 °C에서 건조시켜 메조포러스 실리카 나노입자를 수득하였다.

[0066] 코발트 페라이트 실리카(CoFe₂O₄@SiO₂) 제조

[0067] 코발트 페라이트 주위에 상기 메조포러스 실리카를 분산시키기 위하여, 1 g의 실리카 나노입자 및 10 mL의 에탄올을 혼합하여 1시간 동안 초음파 처리한 후 0.0975 g 코발트(II) 질산 6수화물 및 0.2705 g의 질산제이철 9수화물을 첨가하여 완전히 용해되도록 혼합하였다. 그 후, 1 mL의 IGEPAL CO-520(poly (oxyethylene)nonylphenyl ether) 및 30 mL의 디옥틸에테르(dioctyl ether)를 첨가하여 혼합하고 10분 동안 초음파처리 한 다음 상기 혼합물을 100 mL의 3구 플라스크에 투입하고, 에탄올이 완전히 증발할 때까지 100 °C로 가열하고 300 °C에서 6시간 동안 환류시켰다. 반응이 완료되면, 상기 혼합물을 코니칼 튜브에 투입하고 10분 동안 3000 rpm에서 원심분리하여 상청액은 버리고, 침전물은 에탄올로 3회 세척하였다.

[0068] 상기 세척된 침전물을 80 °C에서 건조시킨 후, 500 °C에서 3시간 동안 소성하여 CoFe₂O₄@SiO₂를 제조하였다.

[0069] 메틸기로 표면개질된 코발트 페라이트 실리카(CoFe₂O₄@SiO₂-CH₃) 나노입자의 제조

[0070] 상기 제조된 CoFe₂O₄@SiO₂ 1 g을 400 mL의 95%(v/v) 에탄올(밀도 0.8g/ml) 및 40 mL의 트리메톡시메틸실란이 혼합된 혼합물에 첨가하여 1시간 동안 초음파 처리 후, 상기 반응물을 코니칼 튜브에 투입하여 10분 동안 3000

rpm으로 원심분리하여 수득된 침전물을 에탄올로 3회 세척하고 80 °C에서 건조함으로써 메틸기로 표면개질된 코발트 페라이트 실리카($\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-CH}_3$)를 제조하였다.

[0071] **비교예 1. 메틸기로 표면개질된 실리카 나노입자($\text{SiO}_2\text{-CH}_3$)**

[0072] 실리카(SiO_2) 제조

[0073] 에탄올 400 ml와 테트라에틸 오르토실리케이트 3 ml를 1시간 동안 교반한 후 수산화암모늄 수용액 30 ml를 첨가하여 2시간동안 교반한 다음 15 ml 코니칼 튜브에 상기 용액을 10ml씩 옮겨 담은 후, 3000 rpm에서 15분 동안 원심분리하였다. 상청액을 버리고 합성된 실리카의 불순물을 제거하기 위해 에탄올을 이용하여 세척하였다. 세척 후에 에탄올을 2 ml 첨가하여 3000 rpm에서 5분간 원심분리하고, 상청액을 버리고 다시 세척하여 80 °C에서 1시간 30분 동안 건조시켜 실리카 나노입자를 제조하였다.

[0074] 메틸기로 표면개질된 실리카($\text{SiO}_2\text{-CH}_3$) 나노입자의 제조

[0075] 상기 실리카 나노입자 1 g에 에탄올 95 부피% 함유 에탄올 수용액(밀도 0.8g/ml) 405 ml와 트리에톡시메틸실란(밀도 0.9 g/ml)을 45 ml 첨가한 후, 마그네틱 바를 이용하여 12시간 동안 교반 한 후, 에탄올을 이용하여 세척하고 80 °C에서 1시간 30분 동안 건조시켜 메틸기로 표면개질된 실리카 나노입자를 제조하였다.

[0076] **<시험예>**

[0077] **시험예 1. 나노입자의 특성**

[0078] 도 1a는 본 발명의 실시예에 따라 제조된 $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2$ 나노입자를 TEM으로 촬영한 사진이며, 도 1b는 상기 $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2$ 나노입자의 모식도이다.

[0079] 또한, 도 2a는 본 발명의 실시예에 따라 제조된 $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-CH}_3$ 나노입자를 TEM으로 촬영한 사진이며, 도 2b는 상기 $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-CH}_3$ 나노입자의 모식도이다.

[0080] 도 1 및 2에 도시된 바와 같이, $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2$ 나노입자는 코어/셸 구조의 두 개 층을 가지며, 구체적으로 코어는 코발트 페라이트가 분산된 자성 코어이며 셸은 노출된 메조포러스 실리카로 구성된다.

[0081] 또한, 상기 $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2$ 나노입자의 메조포러스 실리카의 표면에 메틸기가 표면개질되며, 메틸기로 표면개질된 $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2$ 나노입자, 예컨대 $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-CH}_3$ 나노입자의 평균입경이 대략 300 nm인 것을 확인하였다.

[0082] 상기 나노입자에 표면개질된 메틸기는 푸리에 변환 적외선 분광기(FT-IR)를 이용하여 분석되었다. 상기 메틸기(2978 cm^{-1} 피크)를 나타내는 FT-IR 스펙트럼은 $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-CH}_3$ 나노입자에서 발견되며, 메틸기가 표면개질된 비다공성 실리카($\text{SiO}_2\text{-CH}_3$) 나노입자 및 $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-CH}_3$ 나노입자의 비표면적은 각각 $9.927\text{ m}^2/\text{g}$ 및 $368.743\text{ m}^2/\text{g}$ 로서, 본 발명의 $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-CH}_3$ 나노입자의 비표면적이 월등히 높은 것을 확인하였다.

[0083] 도 3a는 CoFe_2O_4 및 $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2$ 나노입자를 XRD로 측정한 그래프이며, 도 3b는 메조포러스 실리카, $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2$ 나노입자 및 실시예 1의 $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-CH}_3$ 나노입자의 포화 자기화(saturation magnetization)를 나타낸 그래프이다.

[0084] 도 3a에 도시된 바와 같이, 샘플들은 0.02° 의 스텝크기로 20° 에서 80° 까지 스캔되었으며, $2\theta = 30.2^\circ$, 35.6° , 43.0° , 53.4° , 57.1° , 및 62.5° 에서 피크는 각각 스피넬 페라이트 d(220), d(311), d(400), d(422), d(511), 및 d(440) 피크와 일치한다. $2\theta = 20\text{-}30^\circ$ 에서 넓은 밴드는 실리카 구형에 대응한다.

[0085] 이러한 결과는 코발트 페라이트 코어의 표면에 성공적으로 실리카가 코팅된 것을 보여준다.

- [0086] 도 3b에 도시된 바와 같이, 메조포러스 실리카, $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2$ 나노입자 및 실시예 1의 $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-CH}_3$ 나노입자의 자성 특성은 VSM에 의해 측정되었다. 상기 $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2$ 및 $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-CH}_3$ 나노입자의 이력현상 루프가 상온에서 초상자성 거동을 보여준 반면, 비 자성 특성은 메조포러스 실리카 나노입자에 의해 관찰되었다.
- [0087] $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-CH}_3$ 나노입자의 포화 자성은 $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2$ 나노입자와 유사하다.

[0088] **시험예 2. 자성 나노입자를 함유하는 수용액에서 합성가스 물질전달 측정**

[0089] **2-1) 실험방법**

[0090] 합성가스 물질전달 실험장치는 250 ml 병에 증류수 200 ml를 채운 후 질소 가스를 주입하여 무산소 상태를 만든 후에 내부압력이 121.6 kPa이 될 때까지 합성가스를 주입하고 가스가 새어나가지 못하도록 관의 입구를 막았다. 마그네틱 바를 이용하여 20분 동안 200 rpm 의 회전속도로 교반하였고, 증류수에 대한 합성가스의 농도를 분석하여 용존속도를 관찰하였다. 교반시간에 따라 물에 녹은 기체의 농도를 분석하고자 하였으나 물속에 용해된 기체의 농도가 매우 낮아 직접 측정하는 것이 곤란하므로, 실험장치 내 기상(vapor-phase)의 기체를 데틀러 백에 포집하여 가스 크로마토그래피를 통하여 크로마토그램 데이터를 분석하고 기체의 압력을 이용하여, 기상의 기체 양을 결정하였다. 이를 이용하여 초기에 실험장치 속에 존재하는 기체 농도에서 실험의 진행에 따라 측정된 기상의 기체 농도를 빼서 물속에 녹은 기체의 양을 간접적으로 측정하였다.

[0091] 나노입자는 증류수 100 중량부에 대하여 0.3 중량부로 첨가되었다.

[0092] 실시예에 따라 제조된 $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-CH}_3$ 나노입자의 재사용을 위하여, 자성 나노입자는 네오디뮴 자석(neodymium magnet, 5 cm X 5 cm X 205 cm, JL Magnetic Co., Seoul, Korea)을 이용하여 회수하였다.

[0093] **2-2) 결과**

[0094] 도 4는 비교예 1의 SiO_2CH_3 및 실시예 1의 $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-CH}_3$ 나노입자에 대한 CO , CO_2 , 및 H_2 의 용존농도를 나타낸 그래프이다.

[0095] 도 4에 도시된 바와 같이, 나노입자를 첨가하지 않은 대조구에 비하여 비교예 1의 $\text{SiO}_2\text{-CH}_3$ 및 실시예 1의 $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-CH}_3$ 나노입자를 첨가하면 CO , CO_2 , 및 H_2 의 용존농도가 증가하는 것을 확인하였으며, 특히 비교예 1의 $\text{SiO}_2\text{-CH}_3$ 에 비하여 실시예 1의 $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-CH}_3$ 나노입자가 CO , CO_2 , 및 H_2 의 용존농도를 높이는 데 더욱 효과적인 것을 확인하였다.

[0096] 비교예 1의 $\text{SiO}_2\text{-CH}_3$ 은 대조군에 비하여 CO , CO_2 , 및 H_2 의 용존농도가 각각 324%, 178%, 및 243% 향상되었으며, 실시예 1의 $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-CH}_3$ 나노입자는 대조군에 비하여 CO , CO_2 , 및 H_2 의 용존농도가 각각 415%, 197%, 및 394% 향상되었다.

[0097] 상기 실시예 1의 $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-CH}_3$ 나노입자의 실리카 표면층은 메조포러스이므로 비표면적($368.743 \text{ m}^2/\text{g}$)이 비다공성의 $\text{SiO}_2\text{-CH}_3$ 나노입자($9.927 \text{ m}^2/\text{g}$)보다 훨씬 높다. 상기 높은 비표면적은 $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-CH}_3$ 나노입자가 물에서 합성가스 용해를 더 향상시키는 원인이 된다.

[0098] 앞에서 설명한 기-액 물질 전달 시스템에서 물질 전달 계수의 증가를 설명하기 위한 세가지 메카니즘은 가스 상에서 액체 벌크까지 가스 버블의 효과, 상경계층 두께를 감소시켜 기-액(gasliquid) 경계에서 유체역학적 효과에 의해 서틀링하고, 액체 상에서 가스 버블 응집을 억제하는 특정 가스-액체 계면적 변화를 나타낸다. 이러한 메카니즘은 기체-액체 계면에 나노입자의 점착에 기초하며, 이는 $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-CH}_3$ 나노입자의 큰 표면적이 상기 점착성을 향상시킬 수 있음을 의미한다.

[0099] **2-3) 재활용 후 결과**

[0100] 도 5는 실시예 1의 $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-CH}_3$ 나노입자의 재사용 시 CO , CO_2 , 및 H_2 의 용존농도를 나타낸 그래프이다.

[0101] 도 5에 도시된 바와 같이, 네오디뮴 자석(neodymium magnet, 5 cm X 5 cm X 205 cm, JL Magnetic Co., Seoul,

Korea)에 의해 회수된 나노입자는 $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-CH}_3$ 자성 나노입자의 재사용성을 평가하기 위해 5번 재사용되었다.

[0102] 5번 재사용 후, CO , CO_2 , 및 H_2 의 용존 농도는 재사용 전 나노입자로 실험한 수치의 각각 95.7%, 97.2% 및 87.5%로 나타났으며, 이는 재사용된 나노입자가 여전히 우수한 합성가스 물질전달을 위한 능력을 유지하고 있음을 의미한다.

[0103] 시험예 3. 바이오에탄올 생성수율 측정

[0104] 3-1) 실험방법

[0105] 배지 배양은 400 mL의 배지를 포함하는 500 mL 유리병에서 수행되며, 유리병 내의 산소를 제거하기 위해 5분 동안 질소로 치환한 후 다시 합성가스(CO 20 부피%, CO_2 20 부피%, H_2 5 부피% 및 N_2 55 부피%; MS 동민가스사; 한국; 경기도)로 치환한 다음 클로스트리디움 룡달리이(*Clostridium ljungdahlii*, American Type Culture Collection, USA)(ATCC 55383)를 유리병에 접종하였다. 상기 유리병을 진탕배양기(VS-8480, Vision Scientific Co., Daejeon, Korea)에 배치하고, 37 °C에서 60 시간 동안 200 rpm에서 진탕하면서 배양을 실시하였다. 샘플(5 mL)은 에탄올 및 아세트산의 광학 밀도 및 농도를 측정하기 위하여 각 병의 상단에서 샘플포트로부터 수집하였다. 미생물 성장 및 에탄올 생산의 향상 실험은 0.3 중량% $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-CH}_3$ 나노입자를 첨가하여 수행하였으며, $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-CH}_3$ 나노입자의 재사용은 회수된 나노입자로 배양을 반복하여 조사하였다.

[0106] 3-2) 결과

[0107] 도 6은 비교예 1의 $\text{SiO}_2\text{-CH}_3$ 및 실시예 1의 $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-CH}_3$ 나노입자를 이용한 합성가스 발효시 생산되는 (a) 세포 건조 중량, (b) 에탄올 농도 및 (c) 아세트산 농도를 나타낸 그래프이다. 상기 발효 데이터는 적어도 세 번 반복하여 평균을 산출하였다.

[0108] 상기 클로스트리디움 룡달리이(*Clostridium ljungdahlii*)는 배지 발효 용기에서 60시간 동안 배양된다.

[0109] 도 6a에 도시된 바와 같이, 전체적으로 초기 단계에서 세포 건조 중량이 급격히 증가하고 그 이후에는 조금씩 증가된다. 구체적으로, 나노입자 없이 발효된 대조군은 세포 건조 중량이 12시간 동안 선형 증가하고 그 후 일정하게 유지되었다. 또한, 비교예 1의 $\text{SiO}_2\text{-CH}_3$ 및 실시예 1의 $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-CH}_3$ 나노입자를 사용한 경우에는 세포 건조 중량이 3 내지 6시간 동안 급격히 증가한 후 18시간 까지는 약간 증가하였다.

[0110] 상기 세포 건조 중량은 대조군에서 0.76 g/L으로 얻어진 반면, $\text{SiO}_2\text{-CH}_3$ 및 $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-CH}_3$ 나노입자로 18시간 처리 후 각각 1.98 및 2.49 g/L로 얻어졌다. 그러므로 세포 건조 중량은 대조군과 비교하여 $\text{SiO}_2\text{-CH}_3$ 및 $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-CH}_3$ 나노입자를 사용한 경우가 각각 260.5% 및 327.6% 향상되었다.

[0111] 이러한 결과는 모두 가스-액체 물질 전달의 향상을 통해 세포의 성장을 향상시킬 수 있었다는 것을 의미하고, $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-CH}_3$ 나노입자가 세포 성장을 향상시키는데 더 효과적이라는 것을 의미한다.

[0112] 또한, 도 6b에 도시된 바와 같이, 18시간 배양 후 대조군의 에탄올 농도는 0.156 g/L이지만, $\text{SiO}_2\text{-CH}_3$ 및 $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-CH}_3$ 나노입자를 사용시 에탄올 농도는 각각 0.354 g/L 및 0.489 g/L이므로 각각 226.9% 및 313.5% 향상되었다.

[0113] 이러한 결과는 세포 성장률이 에탄올 생산에 높은 의존성을 나타내는 것을 의미한다.

[0114] 또한, 도 6c에 도시된 바와 같이, 아세트산 생산은 비교예 1의 $\text{SiO}_2\text{-CH}_3$ 및 실시예 1의 $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-CH}_3$ 나노입자를 사용하면 12-18 시간 동안 일정하게 유지되었고, 그 후 정지되었다. 또한, 아세트산 농도는 9시간까지 생산 속도가 증가함에 따라 급격히 증가된다.

[0115] 대조군, $\text{SiO}_2\text{-CH}_3$ 및 $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-CH}_3$ 나노입자를 사용한 실험에서 18시간 후 아세트산 농도는 각각 0.156 g/L, 0.266 g/L, 및 0.249 g/L이며, 이는 대조군에 비하여 각각 170.5% 및 159.6% 증가한 수치이다.

[0116] 상기 에탄올 및 아세트산 농도는 매우 높은 수준의 수치이다.

- [0117] 상기 아세트산 및 에탄올 생산의 증강 효율의 차이는 배지에서 H_2 의 증가된 농도에 기인할 수 있으며, H_2 는 전자 수용체로서 에탄올 생산 촉진에 중요한 역할을 한다.
- [0118] 실시예 1의 $CoFe_2O_4@SiO_2-CH_3$ 나노입자를 사용함에 따른 용존 H_2 의 급격한 증가로 인하여 에탄올 생산이 아세트산 생산과 비교하여 급격히 향상된다.
- [0119] 자성 나노입자의 재사용 평가를 위해, 실시예 1의 $CoFe_2O_4@SiO_2-CH_3$ 나노입자는 처음 발효 실험 후 네오디뮴 자석을 이용하여 회수하고 2번째 발효 실험에 재사용하였다.
- [0120] 도 7은 실시예 1의 $CoFe_2O_4@SiO_2-CH_3$ 나노입자를 재사용하여 합성가스 발효시 생산되는 (a) 세포 건조 중량, (b) 에탄올 농도 및 (c) 아세트산 농도를 나타낸 그래프이다. 상기 발효 데이터는 적어도 세 번 반복하여 평균을 산출하였다.
- [0121] 도 7a 내지 7c에 도시된 바와 같이, 실시예 1의 $CoFe_2O_4@SiO_2-CH_3$ 나노입자를 재사용한 두 번째 발효에서 세포 건조 중량, 에탄올 농도 및 아세트산 농도는 변화하였다. 구체적으로, 18시간 발효 후, 두 번째 발효에서 세포 건조 중량, 에탄올 농도 및 아세트산 농도는 첫 번째 발효에 비해 각각 93.3%, 96.2%, 및 96.8% 수준이다.
- [0122] 이러한 결과는 자성 나노입자가 합성가스 발효에서 기-액 물질전달을 향상시키는 능력을 유지하므로 발효에 재사용될 수 있다는 것을 보여준다.
- [0123] -분석 방법-
- [0124] 상기 세포 건조 중량은 UV 분광 광도계(Optizen POP, Macasys Co., Seoul, Korea)를 이용하여 590 nm에서 광학 밀도 측정에 의해 결정되며, 상기 광학 밀도는 표준 감량선을 이용하여 세포 건조 중량으로 전환된다.
- [0125] 상기 합성가스 성분(CO , CO_2 , 및 H_2)의 농도는 열 전도도 검출기(TCD) 및 불꽃 이온화 검출기(FID)를 갖춘 가스 크로마토그래피(YL-6100, Young Lin Instrument Co., Gyeonggi, Korea)를 사용하여 측정된다. 또한, 금속충전 컬럼(3 ft 1/8 in; matrix 45/60 molecular sieve 13X support; Supelco, USA) 및 Porapak N 컬럼(10 ft 1/8 in; Supelco, USA)은 H_2 , CO , 및 CO_2 의 농도를 검출하는데 사용된다. 검출 조건은 40 °C의 초기 오븐 온도를 10 분 동안 유지하고, 주입기 온도는 120 °C, 상기 TCD 및 FID 온도는 각각 120 °C 및 230 °C이다. 아르곤 가스는 15 mL/min의 속도로 캐리어 가스로 사용되며, 가스 농도의 계산은 Autochro-3000 버전 2.0 소프트웨어(Young Lin Instrument Co.)를 사용하여 수행된다.
- [0126] 상기 배양 배지에서 에탄올 및 아세트산의 농도는 Aminex HPX-87H 컬럼(300 mmX7.8 mm; Bio-Rad Laboratories Inc., Hercules, CA, USA)을 사용하여 고성능 액체 크로마토그래피(LC-20AT, Shimadzu Co., Japan)로 측정된다. 측정 조건은 60 °C의 컬럼 온도를 유지하고, 0.6 mL/min의 유속으로 5 mM 황산 수용액을 이동상으로 사용하였다.
- [0127] 사용된 샘플은 8000 rpm에서 원심분리하고 시린지 필터(공극 크기 0.22 μm)를 통해 필터링하여 전처리하였다.
- [0128] 상기 투과전자 현미경(TEM, JEM-2010, Jeol Ltd., Tokyo, Japan)은 $CoFe_2O_4@SiO_2$ 및 $CoFe_2O_4@SiO_2-CH_3$ 나노입자의 형태를 특성화하고, 자기 코어의 크기를 추정하기 위해 사용된다.
- [0129] 상기 $CoFe_2O_4$ 및 $CoFe_2O_4@SiO_2$ 나노입자의 구조적 특성은 X-선 회절장치(Ultima IV, Rigaku Co., Tokyo, Japan)에 의해 분석되며, 나노입자의 비표면적은 질소 흡착-탈착 등온선(Autosorb-iQ 2ST/MP, Quantachrome Instruments, USA)을 사용하여 BET(BrunauerEmmettTeller) 및 바렛-조이너-렌다(BarrettJoynerHalenda) 방정식을 이용하여 계산된다.
- [0130] 진동하는 샘플 자력계(VSM, Lakeshore-7400, Lake Shore Cryotronics, Inc., Westerville, OH, USA)는 나노입자의 자성 특성을 연구하기 위해 사용되었다.
- [0131] 본 발명에 사용된 배지(리터 당)는 0.9 g NaCl, 0.32 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.2 g $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, 및 1.0 g NH_4Cl 을 포함하며; 미량 미네랄 용액(10 mL)의 조성은 15 mg 니트릴로트리아세트산, 1 mg 황산제1철 7수염($FeSO_4 \cdot 7H_2O$), 1

mg $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 1.7 mg $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 1 mg ZnCl_2 , 1 mg $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.2 mg $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.1 mg H_3BO_3 , 0.15 mg $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.17 mg NaSeO_4 , 0.26 mg $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0.002 mg $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.14 mg $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, 10 mg NaCl , 및 1 mg KCl 이고; 비타민 용액(10 mL)의 조성은 2 mg 비오틴, 2 mg 엽산, 10 mg 엽산피리독신, 5 mg 티아민 HCl , 5 mg 리보플라빈, 5 mg 니코틴산, 5 mg 판토텐산, 0.1 mg 시아노코발라민, 5 mg p-아미노벤조산, 및 5 mg 리포산이다.

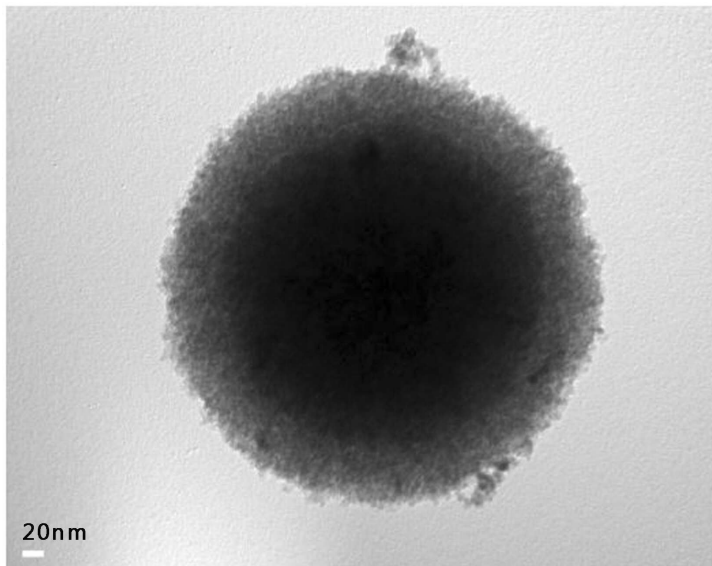
[0132] 환원제로서, 10 mL의 L-시스테인 HCl 용액(0.369 g L-cysteine HCl 포함) 및 10 mL $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 용액(0.25 g $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 포함)을 첨가하였다. 또한, 2 g의 효모 추출물, 0.9 g 과당, 100 μL 의 2% 레사주린 용액(인디케이터로서), 및 20 mL의 0.5 M 인산완충용액을 배지 요액에 참가하였다.

[0133] 준비와 배지 사용은 혐기성 배양을 위한 ATCC 절차를 따랐다.

도면

도면1

(a)

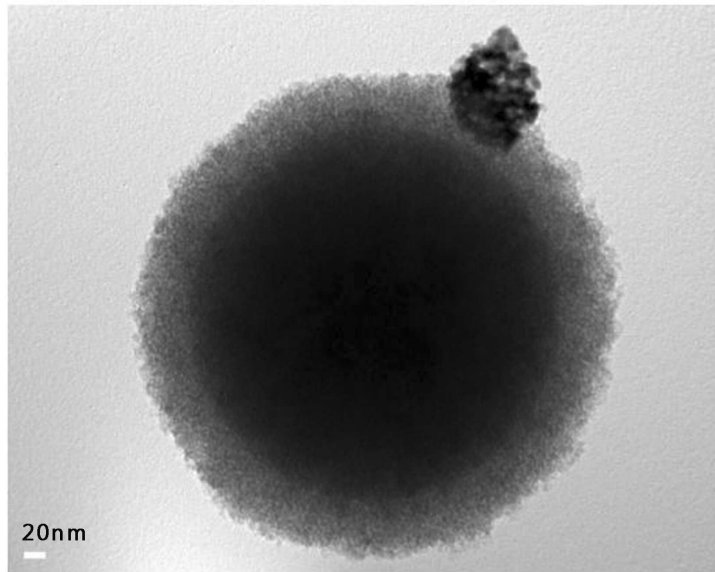


(b)

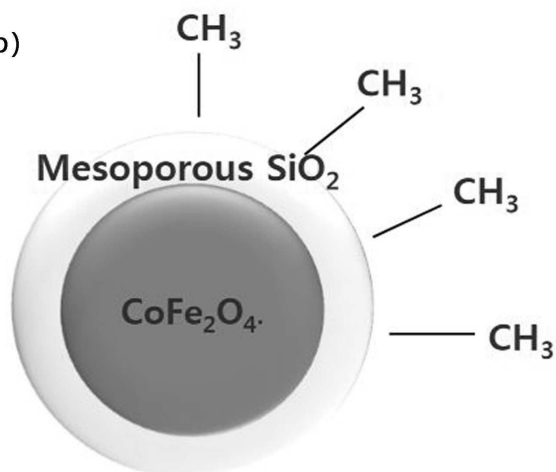


도면2

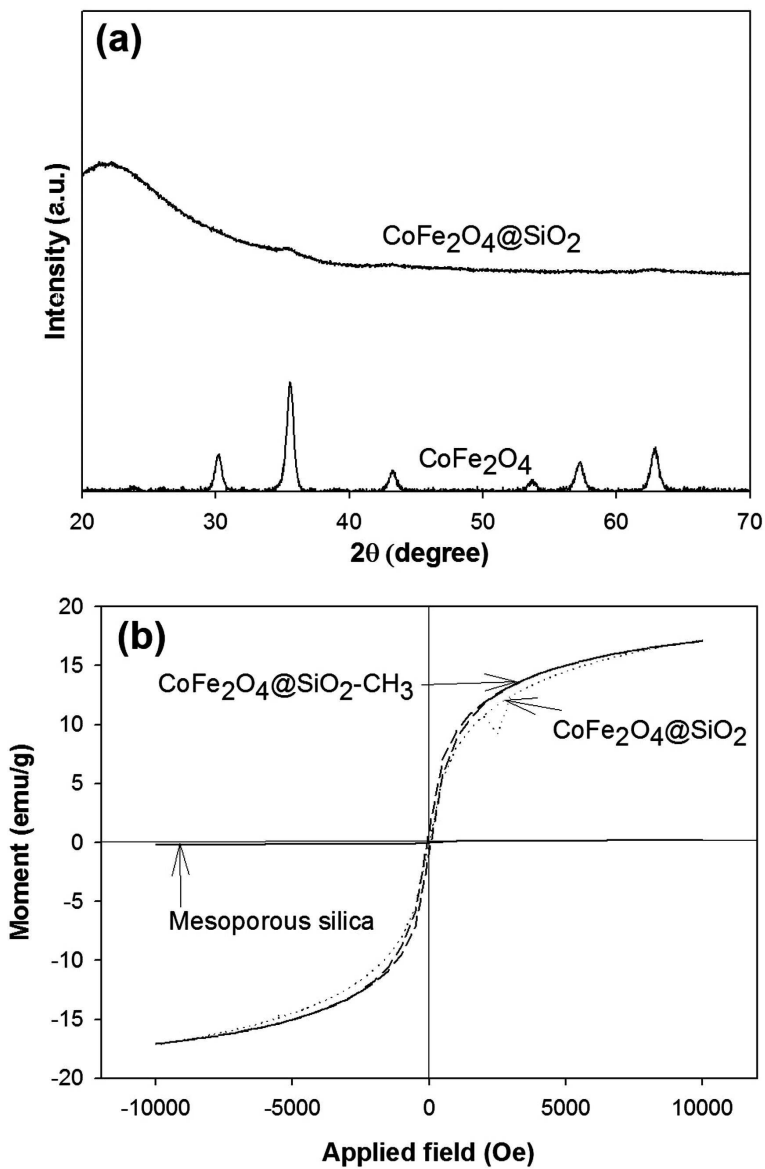
(a)



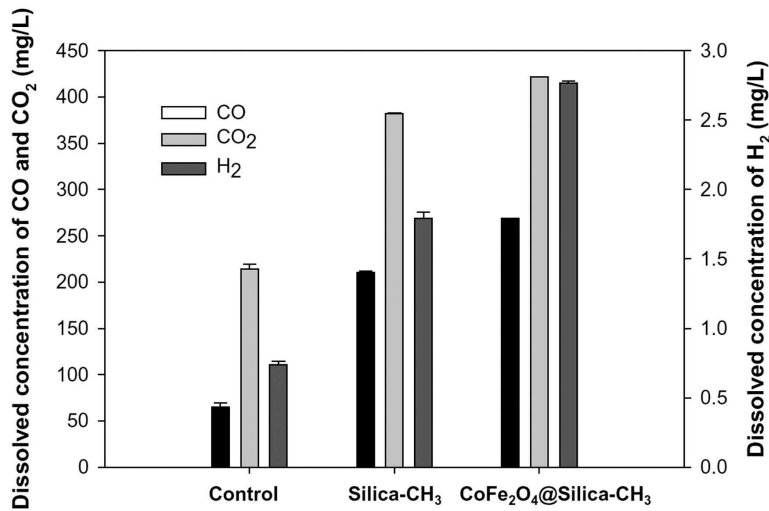
(b)



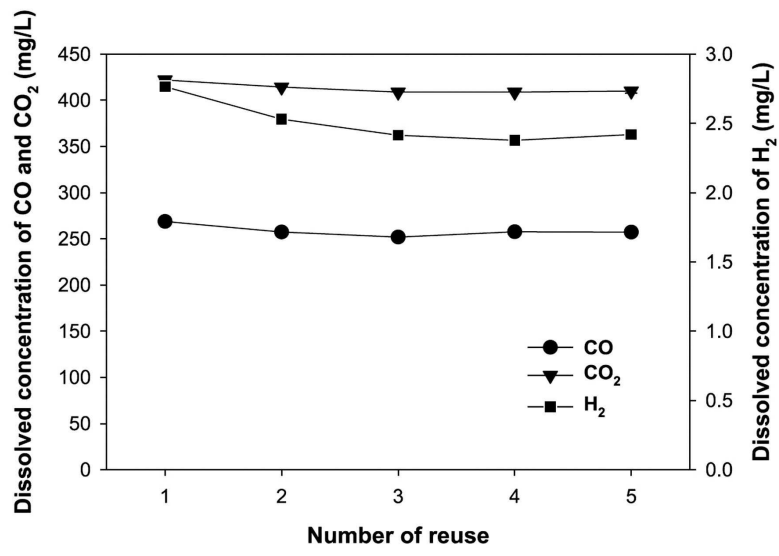
도면3



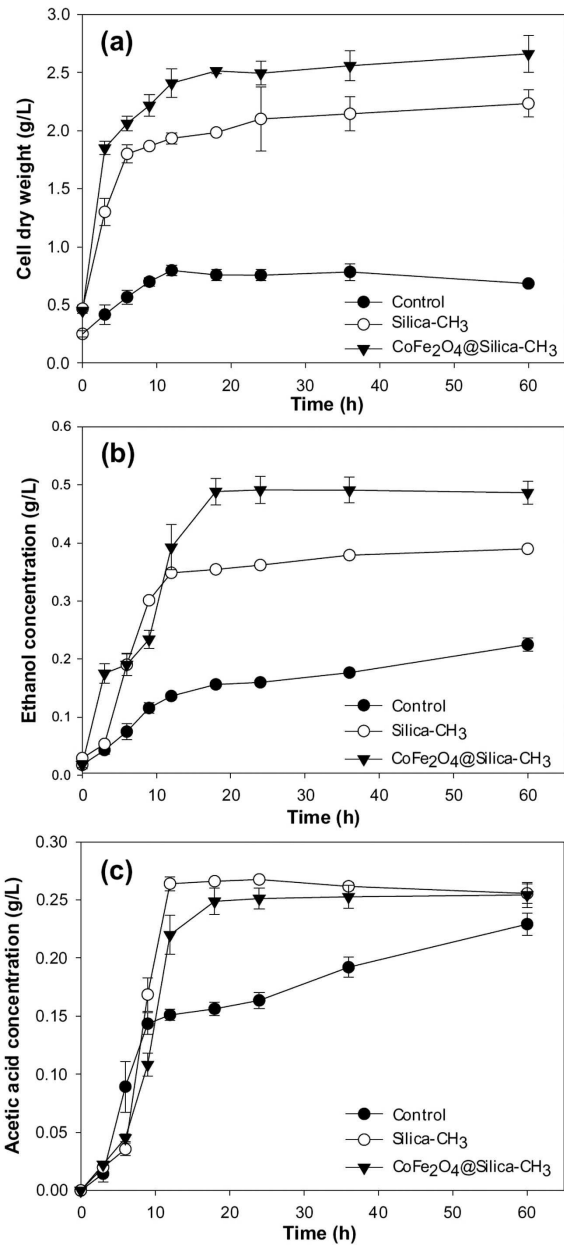
도면4



도면5



도면6



도면7

