



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2013-0076017  
(43) 공개일자 2013년07월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
C07C 51/42 (2006.01) C07C 55/10 (2006.01)  
B01D 11/04 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2011-0144405  
(22) 출원일자 2011년12월28일  
심사청구일자 2011년12월28일

(71) 출원인  
군산대학교산학협력단  
전라북도 군산시 대학로 558 (미룡동,  
군산대학교)  
(72) 발명자  
이상철  
전라북도 군산시 나운3동 대우아파트 103동 706호  
(74) 대리인  
김종혁

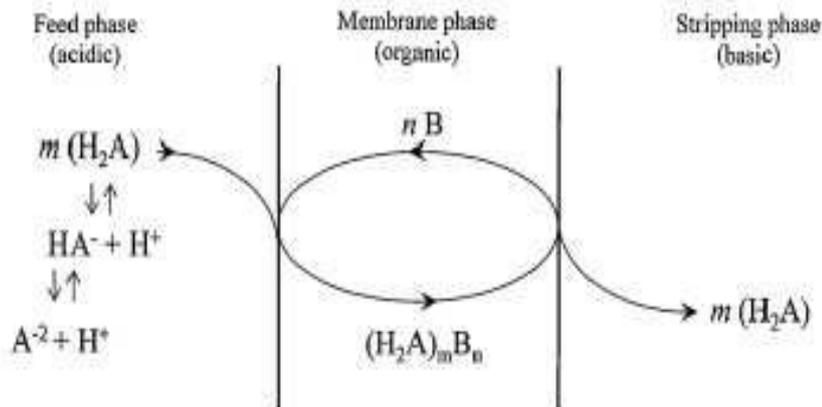
전체 청구항 수 : 총 3 항

(54) 발명의 명칭 **에멀전형 액막법에 의한 숙신산 추출방법**

**(57) 요약**

본 발명은 에멀전형 액막법을 이용하여 숙신산을 추출하는 방법에 관한 것으로, 아세트산이 제거된 배양액으로부터 별도의 전처리 공정 없이 순수한 숙신산을 추출함으로써, 공정 단순화에 의해 비용을 절감할 수 있으므로 경제적인 뿐만 아니라 기존 정제공정에 비해 친환경적이므로 환경오염방지 효과를 거둘 수 있다. 또한, 고농도, 고수율 및 고순도로 숙신산을 추출하여 비용 대비 효율 측면에서 기존의 숙신산 생산방법에 비해 제조 단가를 크게 낮출 수 있다.

**대표도 - 도1**



## 특허청구의 범위

### 청구항 1

에멀전형 액막법을 이용하여 아세트산이 제거된 혼합용액으로부터 순수한 숙신산을 추출하는 방법.

### 청구항 2

제 1 항에 있어서, Amberlite LA-2 농도는 30-50 mmol/dm<sup>3</sup>, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 농도는 1.0 -2.0 mol/dm<sup>3</sup>, Span 80 대 C9232의 부피비를 1로 하여 총 계면활성제 부피값이 5-7 vol% 및  $V_{em,0}/V_{feed,0} = 1/6$  또는 1/5인 것을 특징으로 하는 에멀전형 액막법을 이용하여 숙신산을 추출하는 방법.

### 청구항 3

제 1 항에 있어서, Amberlite LA-2 농도는 30-70 mmol/dm<sup>3</sup>, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 농도는 1.0 -2.0 mol/dm<sup>3</sup>, Span 80 대 C9232의 부피비를 1로 하여 총 계면활성제 부피값이 5-7 vol%,  $V_{em,0}/V_{feed,0} = 1/6$  또는 1/5 및 1-옥타놀 5-7vol%인 것을 특징으로 하는 에멀전형 액막법을 이용하여 숙신산을 추출하는 방법.

## 명세서

### 기술분야

[0001] 본 발명은 순수한 숙신산을 추출하는 방법에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 에멀전형 액막법을 이용하여 숙신산을 고순도, 숙신산을 고농도로 생산할 수 있는 추출방법에 관한 것이다.

### 배경기술

[0002] 숙신산(HOOC(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>COOH, 일명 호박산)은 디카르복시산으로 호박의 건류에 의해 얻을 수 있는 산으로 생물계에 널리 존재하며 피루브산이 트리카르복시산 회로에 의해 대사되는 과정에서 생긴다. 숙신산은 화학, 식품, 의약품, 화장품, 용매 제조 등에 광범위하게 사용되며, 산업적으로 중요한 많은 종류의 화학물질 전구체로서 사용이 가능함에 따라 향후 급격한 수요증가가 예상되는 매우 중요한 기초화학물질이다. 지금까지는 산업용으로 사용되고 있는 대부분의 숙신산은 원유를 이용한 화학적 합성법에 의하여 생산되고 있으나, 최근에는 지속적인 원유가격의 상승 및 환경오염에 대한 규제가 증가함으로 인해 석유자원으로부터 화학적으로 숙신산을 제조하는 방법을 대체할 수 있는 미생물 등 생물자원을 이용한 발효과정을 통해 생리학적으로 숙신산을 생산, 분리·정제하는 방법의 개발의 필요성이 대두되고 있다. 특히 바이오기반 화학물질 생산에 소요되는 막대한 비용을 절감하기 위한 일환으로, 친환경적이면서 고순도의 화학물질을 고수율로 분리·정제할 수 있는 공정 개발을 위한 노력이 집중적으로 이루어지고 있다.

[0003] 재생가능한 원료물질을 이용하여 미생물 발효를 통한 바이오기반 화학물질을 생산하는 경우, 숙신산과 함께 아세트산 등 다양한 대사산물들이 부산물로서 동시에 과량 생산되어 최종 발효 배양액에 존재하기 때문에 이들을 효율적으로 분리하여 고순도의 숙신산을 정제하는 공정의 개발이 반드시 필요하다. 특히, 미생물 발효 공정을 이용한 유기산 생산의 경우, 전체 생산비용의 50 - 70%를 분리·정제 공정이 차지한다는 것은 당업자에게 널리 알려진 사실이다. 비록 액-액 추출, 막 분리, 반응 추출 등 다양한 종류의 숙신산 분리·정제 공정들이 현재까지 개발되었지만, 이들의 대부분은 숙신산의 수율이 낮거나 또는 순도가 매우 낮아 바이오기반 숙신산 생산을 위한 최종적인 분리·정제 공정으로서 직접 적용하기에는 많은 한계점을 가지고 있다. 따라서 바이오기반 숙신산 생산이 가격 경쟁력을 확보하여 대량생산이 가능하기 위해서는 경제적이고 효율적인 분리·정제 공정의 개발

이 반드시 필요하다. 하지만 숙신산은 기존 미생물 등을 이용해 추출할 경우 복잡한 생산 공정을 갖춰야 해 생산 단가가 높을 수밖에 없다는 게 문제점으로 지적돼 왔다.

[0004] 에멀전형 액막법(emulsion liquid membrane)은 원료로부터 최종생성물을 얻기 위해 추출 및 역추출의 두 단계가 단일공정에서 이루어지기 때문에 생산비가 절약되는 장점이 있다. 최근 바이오기반 화학물질의 제조 등 다양한 분야에서 상업적 응용을 위한 시도들이 이루어지고 있다.

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

[0005] 상기 종래기술의 문제점을 해결하기 위하여, 본 발명자는 에멀전형 액막법을 이용하여 대사부산물인 아세트산을 제거하고 숙신산 추출률을 최대로 할 수 있는 적절한 조건을 검토하고, 기존의 숙신산 추출방법에 비해 고농도의 순수한 숙신산을 분리·정제할 수 있는 것을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

[0006] 본 발명의 주된 목적은 에멀전형 액막법을 이용하여 고순도 및 고수율의 숙신산을 추출하는 방법을 제공하는 데 있다.

### 과제의 해결 수단

[0007] 상기 목적을 달성하기 위해서, 본 발명은 에멀전형 액막법을 이용하여 아세트산이 제거된 혼합용액으로부터 순수한 숙신산을 추출하는 방법을 제공한다.

[0008] 더욱 상세하게는 본 발명은 Amberlite LA-2 농도는 30-50 mmol/dm<sup>3</sup>, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 농도는 1.0 -2.0 mol/dm<sup>3</sup>, Span 80 대 C9232의 부피비를 1로 하여 총 계면활성제 부피값이 5-7 vol% 및  $V_{em,0}/V_{feed,0} = 1/6$  또는 1/5인 것을 특징으로 하는 에멀전형 액막법을 이용하여 숙신산을 추출하는 방법을 제공한다.

[0009] 또한, 본 발명은 Amberlite LA-2 농도는 30-70 mmol/dm<sup>3</sup>, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 농도는 1.0 -2.0 mol/dm<sup>3</sup>, Span 80 대 C9232의 부피비를 1로 하여 총 계면활성제 부피값이 5-7 vol%,  $V_{em,0}/V_{feed,0} = 1/6$  또는 1/5 및 1-옥타놀 5-7vol%인 것을 특징으로 하는 에멀전형 액막법을 이용하여 숙신산을 추출하는 방법을 제공한다.

### 발명의 효과

[0010] 본 발명의 에멀전형 액막법을 이용한 숙신산 추출방법에 따르면, 아세트산이 제거된 배양액으로부터 별도의 전처리 공정 없이 순수한 숙신산을 추출함으로써, 공정 단순화에 의해 비용을 절감할 수 있으므로 경제적인 뿐만 아니라 기존 정제공정에 비해 친환경적이므로 환경오염방지 효과를 거둘 수 있다. 또한, 고농도, 고수율 및 고순도로 숙신산을 추출하여 비용 대비 효율 측면에서 기존의 숙신산 생산방법에 비해 제조 단가를 크게 낮출 수 있다.

### 도면의 간단한 설명

[0011] 도 1은 본 발명에 따른 에멀전형 액막법에 의한 숙신산의 수송 메커니즘을 개략적으로 나타낸 것이다. (H<sub>2</sub>A: 숙신산, B: 아민 추출제)

도 2는 본 발명의 실시예 2에 따른 숙신산 추출방법을 수행한 결과를 나타낸 것이다.

도 3은 본 발명의 실시예 3에 따른 숙신산 추출방법을 수행한 결과를 나타낸 것이다. (S: Span 80, C: C9232, O: 1-옥타놀)

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0012] 이하, 하기 실시 예를 통해 본 발명을 더욱 상세하게 설명한다. 다만, 이러한 실시 예에 의해 본 발명이 한정되는 것은 아니다.
- [0013] <실시예 1> 에멀전형 액막법에 의한 숙신산 추출방법
- [0014] 1. 시료 준비
- [0015] 탈이온수(18.2 MΩ, Simplicity, Millipore)에 숙신산 (ACS reagent, Sigma-Aldrich Co.)을 첨가하여 숙신산 농도가 40 또는 220 mmol/dm<sup>3</sup>이 되도록 외부 수용상을 준비하였다. 숙신산 추출에 있어서 외부 수용상 타입이 미치는 영향을 실험하는 경우에는 탈이온수 대신에 HCl (EP grade, Samchun Pure Chemical Co.) 또는 NaOH(First grade, Showa Chemical Co.) 용액을 사용하였다. 내부 수용상 용액은 탄산나트륨 (First grade, Showa Chemical Co.) 또는 수산화나트륨을 탈이온수에 용해시켜 준비하였다. 유기 액막상에서 추출제로는 Amberlite LA-2 (2차 아민, Merck)을 준비하고, 계면활성제로는 C9232 (폴리아민계 계면활성제; Infineum Singapore Pte. Ltd.), Span 80 (Sorbitan monooleate, Sigma), 또는 이들의 혼합물을 준비하고, 액막 첨가제로는 1-옥타놀 (EP grade, Yakuri Pure Chemicals Co.)을 등유(purum, Fluka)에 용해시켜 준비하였다.
- [0016] 2. 실험기구 및 실험과정
- [0017] 유기 액막상에 내부 수용상 용액을 천천히 첨가하면서 균질기(high speed generator, T25, IKA Lab.)로 교반하여 유중 수형(w/o) 타입 에멀전을 만들었다. 외부 수용상 420 cm<sup>3</sup>에 w/o 에멀전 일정량을 분산시켰다. 4개의 수직형 배플을 가진 회분형 반응조(batch reactor) 내에서 외부 수용상 및 에멀전을 지름 4.5 cm의 터빈 임펠러로 교반하였고 회분형 반응조에 부착된 워터 제킷을 통해 물을 흘려줌으로써 온도를 25℃로 유지하였다. 6 Hz의 교반 속도로 모든 추출을 수행하였다. 유기 액막상에 대한 내부 수용상의 초기 부피비는 1로 하였다. 유화 속도는 200 Hz로 시간은 10분으로 수행하였다. 외부 수용상은 에멀전상으로부터 여과지를 사용하여 여과하여 분리하였다. 실험하는 동안 시료들은 반응기로부터 주기적으로 취했다. 얼림과 녹임법(freezing and thawing method)으로 에멀전을 탈유화시켜 내부 수용상을 얻었다. 외부 수용상 및 내부 수용상에서의 숙신산 농도는 HPLC (equipped with a 7.8 mm × 300 mm Supelcogel 610-H column, Supelco)를 이용하여 분석하였다. 이동상 조성은 0.1% 인산으로 하고 유속은 Waters 515 펌프를 이용하여 0.5 ml/min 속도로 컬럼을 통과시켰다. 210 nm에서 PDA 검출기 (Waters 996)를 이용하여 검출하였다. 숙신산의 머무름 시간은 약 19분이었다.
- [0018] 본 발명에서 숙신산의 첫 번째 운반체로 Amberlite LA-2를 이용하였다. 폴리아민 계면활성제(C9232)는 폴리알켄, 2차 및 3차 아민으로 상업적으로 만든 비스숙시니마이드(bissuccinimide)로 ELM 시스템에서 유화제뿐만 아니라 두 번째 운반체로 기능하였다. 내부 수용상으로 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 고농축 용액을 사용한 경우 상당량의 숙신산이 농축되었다.
- [0019] 본 발명에 따른 에멀전형 액막법(ELM)을 이용하여 아세트산이 제거된 혼합용액으로부터 효율적으로 고농도의 숙신산을 얻을 수 있었다.
- [0020] <실시예 2> 초기 숙신산 농도 40mmol/dm<sup>3</sup>인 경우
- [0021] 40 mmol/dm<sup>3</sup>의 낮은 초기 숙신산 농도로 ELM 시스템에서 수행하였다. 이때, 30 mmol/dm<sup>3</sup>의 Amberlite LA-2, 1.0 mol/dm<sup>3</sup>의 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Span 80 대 C9232의 부피비는 1, 총 계면활성제 농도 5 vol%, V<sub>em,0</sub>/V<sub>feed,0</sub> = 1/6로 실험을 수행하였다. 숙신산을 고농도로 농축하였다.
- [0022] <실시예 3> 초기 숙신산 농도 220mmol/dm<sup>3</sup>인 경우
- [0023] 30 mmol/dm<sup>3</sup>의 Amberlite LA-2, 1.5 mol/dm<sup>3</sup>의 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Span 80 대 C9232의 부피비는 1, 총 계면활성제 농도 5

vol%,  $V_{em,0}/V_{feed,0} = 1/6$ , 1-옥타놀 5vol%를 첨가하여 실험을 수행하였다.

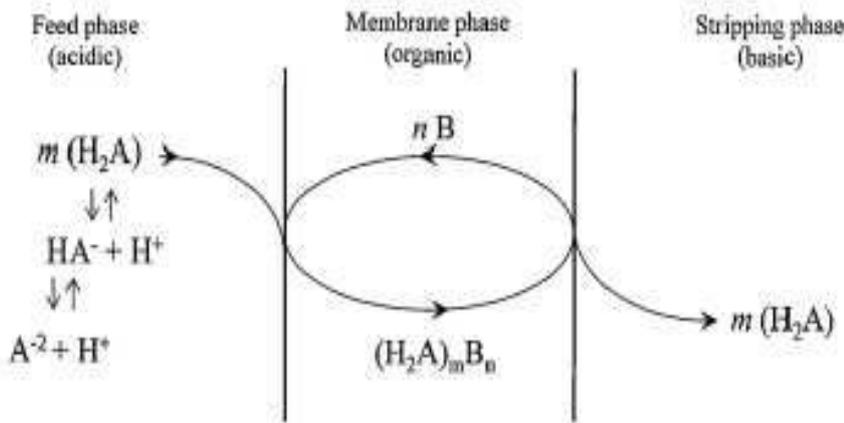
[0024] 초기 숙신산 농도가 고농도에서 ELM을 수행한 경우, 5-8 vol%의 1-옥타놀 및 50 mmol/dm<sup>3</sup>의 Amberlite LA-2, 2 mol/dm<sup>3</sup>의 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 농도 및 1/5의  $V_{em,0}/V_{feed,0}$  값이 바람직하다.

[0025] 도 3에 나타낸 바와 같이 상기 공정 조건하에서 숙신산의 추출률은 93 ~ 99%이고, 농축률은 0.9 ~ 1.5이었다.

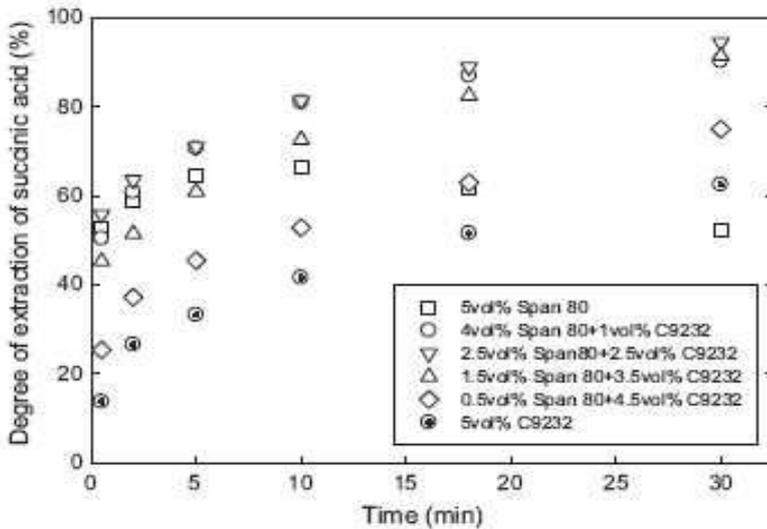
[0026] 이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술한바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현 예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

도면1



도면2



도면3

