



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 등록특허공보(B1)**

(45) 공고일자 2014년08월26일  
 (11) 등록번호 10-1434520  
 (24) 등록일자 2014년08월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
 C13K 1/04 (2006.01) C12P 19/02 (2006.01)  
 C08B 1/00 (2006.01)  
 (21) 출원번호 10-2012-0018283  
 (22) 출원일자 2012년02월23일  
 심사청구일자 2012년02월23일  
 (65) 공개번호 10-2013-0096798  
 (43) 공개일자 2013년09월02일  
 (56) 선행기술조사문헌  
 국제공개공보 W02008/098032(2008.08.14.)  
 Joseph B. Binder 등. PNAS. Vol. 107, No. 10,  
 페이지 4516-4521 (2010.)

(73) 특허권자  
 한국화학연구원  
 대전광역시 유성구 가정로 141 (장동)  
 (72) 발명자  
 황인택  
 대전 유성구 어은로 57, 133동 606호 (어은동, 한  
 빛아파트)  
 박노중  
 대전 유성구 엑스포로 501, 107동 204호 (전민동,  
 청구나래아파트)  
 (뒷면에 계속)  
 (74) 대리인  
 양부현

전체 청구항 수 : 총 5 항

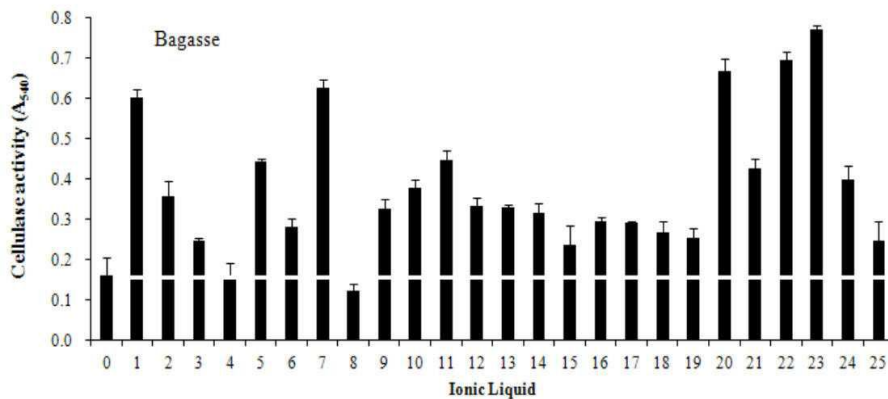
심사관 : 이영기

(54) 발명의 명칭 **바이오매스로부터 글루코오스의 제조방법**

**(57) 요약**

본 발명은 바이오매스로부터 글루코오스의 제조방법에 관한 것으로, 다음의 단계를 포함하는 바이오매스로부터 글루코오스의 제조방법을 제공한다: (a) 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스 및 리그닌을 포함하는 바이오매스에 상온이온성액체를 처리하여 셀룰로오스를 용해시키는 단계; (b) 상기 상온이온성액체를 제거하여 상기 셀룰로오스를 재결정화 하는 단계; 및 (c) 상기 재결정화된 셀룰로오스에 셀룰라아제를 처리하여 글루코오스를 수득하는 단계. 본 발명은 기존의 복잡한 전처리과정에서 발생할 수 있는 과분해 산물 및 불순물의 영향을 배제함은 물론 공정의 단순화, 상온이온성액체의 재활용으로 경비절감 및 환경오염 배제, 상온에서 이루어지기 때문에 전처리공정으로 소비되는 에너지의 절약, 당화활성의 증대효과를 동시에 얻을 수 있다.

**대표도 - 도1**



(72) 발명자  
**임희경**  
 대전 유성구 어은로 57, 130동 202호 (어은동, 한  
 빛아파트)

**이기인**  
 대전 유성구 어은로 57, 113동 305호 (어은동, 한  
 빛아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업  
 과제고유번호 109192-03-3-SB010  
 부처명 농림부  
 연구사업명 농림수산기술개발사업  
 연구과제명 농림부산물(반섬유소) 이용 젖산 생산기술(C5-SSF) 개발  
 기 여 율 1/2  
 주관기관 한국화학연구원  
 연구기간 2011.04.10 ~ 2012.04.09

이 발명을 지원한 국가연구개발사업  
 과제고유번호 1003557420110210060001164510035546201102  
 부처명 지식경제부  
 연구사업명 지식경제기술혁신사업  
 연구과제명 바이오매스 화학/생물 전환공정을 통한 플랫폼 바이오화학소재의 생산기술  
 기 여 율 1/2  
 주관기관 한국화학연구원  
 연구기간 2011.04.01 ~ 2012.03.31

---

**특허청구의 범위**

**청구항 1**

다음의 단계를 포함하는 바이오매스로부터 글루코오스의 제조방법:

- (a) 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스 및 리그닌을 포함하는 바이오매스에 상온이온성액체를 처리하여 셀룰로오스를 용해시키는 단계;
- (b) 상기 상온이온성액체를 제거하여 상기 셀룰로오스를 재결정화 하는 단계; 및
- (c) 상기 재결정화된 셀룰로오스에 셀룰라아제를 처리하여 글루코오스를 수득하는 단계: 상기 바이오매스는 백합나무이고 상기 상온이온성액체는 1-에틸-3-메틸 이미다졸리움, 1-부틸-3-메틸 이미다졸리움, 1-에틸-3-메틸 이미다졸리움 클로라이드, 1-에틸 이미다졸리움 브로마이드 또는 1-에틸-이미다졸리움 클로라이드이며, 또는 상기 바이오매스는 현사시나무이고 상기 상온이온성액체는 1-부틸-3-메틸 이미다졸리움이고, 또는 상기 바이오매스는 상수리나무이고 상기 상온이온성액체는 1,2,3-트리메틸 이미다졸리움 메틸 설페이트이며, 또는 상기 바이오매스는 옥송이고 상기 상온이온성액체는 1-메틸 이미다졸리움 클로라이드 또는 1-에틸-이미다졸리움 클로라이드이며, 또는 상기 바이오매스는 왕겨이고 상기 상온이온성액체는 1-메틸 이미다졸리움 클로라이드인 것을 특징으로 한다.

**청구항 2**

삭제

**청구항 3**

제 1 항에 있어서, 상기 단계 (a)의 바이오매스는 자연 상태 그대로의 바이오매스 또는 물리적 처리만 된 바이오매스인 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 4**

제 1 항에 있어서, 상기 단계 (b)의 상온이온성액체의 제거는 안티솔벤트(antisolvent)를 처리하여 실시하는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 5**

제 4 항에 있어서, 상기 안티솔벤트는 물 및 1 내지 10 개의 탄소 원자를 갖는 알칸올(alkanol), 3 내지 10 개의 탄소 원자를 갖는 케톤(ketone), 5 내지 10 개의 탄소원자를 갖는 알칼리(alkali) 및 이의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 하나의 화합물을 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 6**

제 5 항에 있어서, 상기 안티솔벤트는 메탄올인 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 7**

삭제

**청구항 8**

삭제

**명세서**

**기술분야**

[0001] 본 발명은 바이오매스로부터 글루코오스의 제조방법에 관한 것이다.

**배경기술**

[0002] 21세기를 살아가는 인류는 화석연료 대체자원 개발이라는 숙제를 안고 있으며, 이산화탄소 방출저감 등 국제 환경규제에 대응하기 위하여 태양에너지, 풍력, 수력, 원자력 및 바이오매스 등을 주요 대상으로 연구하고 있다. 이들 중에서 바이오매스에는 약 40%를 차지하는 셀룰로오스(cellulose)는 β-1,4-글리코시드 결합을 갖는 D-글루코오스만의 집합체로서 자연계에 풍부히 존재하는 재생 가능한 천연 자원이다. 셀룰로오스는 매우 강한 결정형 물질로, 물이나 유기 용매에 쉽게 용해되지 않기 때문에 글루코오스로의 전환, 즉 당화 과정에 어려움이 있다. 이로 인하여 바이오연료 또는 바이오화학물질로의 전환 활용에 어려움이 있다. 그러나 바이오매스는 타 대체 에너지 자원들과는 달리 유일한 탄소자원이기 때문에 관련기술(바이오리파이너리)이 개발되면 바이오매스 산업은 기존의 석유화학제품을 대체할 수 있다. 즉, 일상생활에서부터 각종 에너지, 화학, 플라스틱, 식품, 사료 및 제약 등 매우 다양한 산업 분야에 적용되는 기술로 미래 경제체제에 미치는 파급효과가 매우 클 것으로 예측하고 있다. 이에 따라 산업체, 학계, 연구기관의 기술 협력 계획과 강력한 정책적, 제도적 기반 확립이 뒤따르고 있다. 즉, 미래 시장경제구조는 바이오 화학 시장 수요로 치환될 것이며, 바이오매스의 안정적 확보 및 활용 기술개발을 위하여 한국 실정에 적합한 자원의 발굴, 전처리기술 개발, 당화 및 발효시스템 개발 등 종합적 바이오리파이너리 기술개발이 필수적으로 선결되어야 할 것이다.

[0003] 그러나 현재까지 알려진 셀룰로오스 가수분해 기술들은, 주로 효소 혹은 액체 산을 촉매로 사용하였다. 세계적으로 추진되고 있는 전처리 방법에는 크게 약산처리, 암모니아처리 및 석회처리 등이 있으며, 각 처리 방법에 따라 장단점이 있기 때문에 전처리 방법에 따라 후속 처리방법의 개발이 요망되고 있다. 액체 산 촉매를 사용하여 셀룰로오스 가수분해 반응을 수행하게 되면 주생성물인 글루코오스 외에도 하이드록시메틸페르프랄(hydroxymethyl furfural), 레블린산(levulinic acid) 및 포름산(formic acid) 등과 같은 2차 생성물이 생성되며, 이에 따른 환경적인 문제가 발생할 뿐만 아니라 연속식 공정이 불가능하다는 문제가 있다. 기타 열화학적 분해방법이 있지만 산이나 염기를 첨가하고 고온에서 스팀 가압하여 분해하는 방법으로, 많은 양의 에너지를 소모할 뿐만 아니라 산 및 염기 등과 함께 고온에서도 견딜 수 있는 고가의 장치가 필요하다. 또한 이때 발생하는 폐기물의 처리비용 등으로 인하여 생산단가가 높아지게 된다. 또한 과반응과 부반응 등으로 인해 글루코스 및 자일로스 등 순수한 당류를 분리하기 어렵거나 많은 량을 손실하게 된다. 한편, 효소를 사용하여 셀룰로오스 가수분해 반응을 수행하는 경우, 셀룰로오스의 비수용성 때문에 효소가 셀룰로오스와 접촉하기 어려워 반응속도가 낮은 단점을 가진다. 이를 위해서는 국산 바이오매스에 적합한 전처리 기술, 신규 섬유소 분해효소 발굴 및 개량을 통한 효율적 당화기술, 효소재사용 등을 통한 생산단가 절감기술, C6/C5 당 동시 활용기술, 효율적 발효 및 분리정제기술, 친환경적 화합물 전환기술 등이 필수적이다. 또한 우리나라는 국토면적이 좁기 때문에 부존 바이오매스 자원의 량이 한정되어 있기 때문에 단일 종류의 바이오매스를 지속적으로 확보하기 어려운 실정이다. 따라서 다양한 바이오매스에 공통적으로 처리할 수 있는 전처리 표준화 기술을 정립하고, 연속되는 후속 처리방법을 개발해야만 전처리 이후 생산 분리되는 셀룰로오스(글루칸)와 헤미셀룰로오스(자일란)를 활용하는 후속 바이오리파이너리 기술개발이 순조롭게 진행될 수 있을 것이다.

[0004] 후속 공정으로 효소를 이용하는 당화기술은 생물학적 방법으로 에너지의 소모가 적고 순수한 당류를 얻어낼 수 있을 뿐 만 아니라 발생하는 폐기물 역시 소량이고 그 처리가 용이하기 때문에 경제적으로도 매우 유리하다. 그러나 이러한 효소시스템의 문제점은 효소 역가가 낮아 반응속도 및 분해율이 실용화 공정 요구도를 충족시키지 못하여 기존에 알려진 효소들을 산업적으로 이용하지 못하고 있다. 즉, 종래의 과격한 바이오매스의 전처리 과정 후에는 셀룰로오스 외에 다량의 분해 산물들이 불순물로 잔존되어 있기 때문에 당화 및 발효 공정의 저해 물질로 작용한다는 문제가 있었다. 이에, 특정 성분을 분리 제거하거나 분별하기 위한 별도의 과정을 추가적으로 거칠 필요가 있다. 따라서 높은 분해력을 가진 신규 효소를 개발하거나, 불순물의 영향을 받지 않으면서 당화활성을 크게 증대시킬 수 있는 새로운 반응시스템과 반응기의 설계 및 생산기술의 확립이 필요하다.

[0005] 본 명세서 전체에 걸쳐 다수의 논문 및 특허문헌이 참조되고 그 인용이 표시되어 있다. 인용된 논문 및 특허문헌의 개시 내용은 그 전체로서 본 명세서에 참조로 삽입되어 본 발명이 속하는 기술 분야의 수준 및 본 발명의 내용이 보다 명확하게 설명된다.

**발명의 내용**

**해결하려는 과제**

[0006] 본 발명자들은 환경 및 에너지 문제를 해결하기 위해 기존의 석유화학제품을 대체할 수 있는 화석연료 대체자원을 개발하고자 노력하였다. 그 결과, 상온이온성액체를 이용하여 자연상태의 바이오매스로부터 글루코오스를 제조하는 방법을 규명함으로써, 본 발명을 완성하였다.

[0007] 따라서, 본 발명의 목적은 글루코오스의 제조방법을 제공하는 데 있다.

[0008] 본 발명의 다른 목적은 글루코오스를 제공하는 데 있다.

[0009] 본 발명의 다른 목적 및 이점은 하기의 발명의 상세한 설명, 청구범위 및 도면에 의해 보다 명확하게 된다.

**과제의 해결 수단**

[0010] 본 발명의 일 양태에 따르면, 본 발명은 다음의 단계를 포함하는 바이오매스로부터 글루코오스의 제조방법을 제공한다.

[0011] (a) 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스 및 리그닌을 포함하는 바이오매스에 상온이온성액체를 처리하여 셀룰로오스를 용해시키는 단계;

[0012] (b) 상기 상온이온성액체를 제거하여 상기 셀룰로오스를 재결정화 하는 단계; 및

[0013] (c) 상기 재결정화된 셀룰로오스에 셀룰라아제를 처리하여 글루코오스를 수득하는 단계.

[0014] 본 발명자들은 환경 및 에너지 문제를 해결하기 위해 기존의 석유화학제품을 대체할 수 있는 화석연료 대체자원을 개발하고자 노력하였다. 그 결과, 상온이온성액체를 이용하여 자연상태의 바이오매스로부터 글루코오스를 제조하는 방법을 규명하였다.

[0015] 즉, 바이오매스에 직접 상온이온성액체를 처리하여 셀룰로오스 성분을 용해시키고 이어서 상온이온성 액체를 제거하고 당화효소를 이용한 당화과정으로 연결함으로써 복잡한 기존의 전처리과정에서 발생할 수 있는 과분해 산물 및 불순물의 영향을 배제함은 물론 공정의 단순화, 상온이온성액체의 재활용으로 경비절감 및 환경오염 배제, 상온에서 이루어지기 때문에 전처리과정으로 소비되는 에너지의 절약, 당화활성의 증대효과 등 다양한 효과를 동시에 얻을 수 있는 기술을 개발하였다.

[0016] 본 발명의 바이오매스로부터 글루코오스의 제조방법을 각각의 단계로 나누어 상세하게 설명하면 다음과 같다:

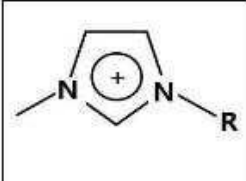

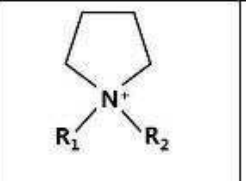
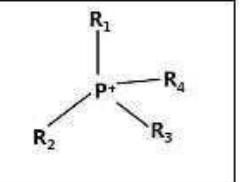
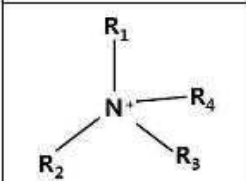
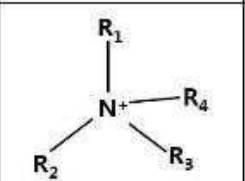
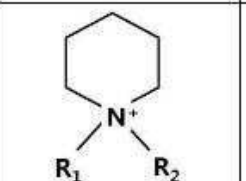
[0017] 단계 (a): 셀룰로오스의 용해 단계

[0018] 먼저, 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스 및 리그닌을 포함하는 바이오매스에 상온이온성액체를 처리하여 셀룰로오스를 용해한다.

[0019] 본 명세서에서, 용어 ‘바이오매스’는 재생가능한 에너지원으로써, 살아있거나 최근에 죽은 생물로부터 얻는다. 바이오매스는 탄소, 수소 및 산소를 기본으로 구성하고, 직접 이용하거나 바이오연료(biofuel)와 같은 다른 에너지 산물로 전환하여 이용할 수 있다. 쓰레기, 목재, 폐기물, 매립지가스 및 알코올연료의 5 가지 에너지원으로부터 바이오매스 에너지를 얻을 수 있다. 목재 에너지는 목재를 수확하거나 폐목재를 이용한다. 본 발명은 수확한 목재 및 폐목재를 포함하는 목재 바이오매스를 이용한다.

- [0020] 바이오매스는 메탄 가스, 에탄올 및 바이오디젤 등의 수송연료와 같은 다른 사용가능한 형태의 에너지로 전환할 수 있다.
- [0021] 본 발명의 특징 중 하나는 출발물질로서의 바이로매스를 자연 상태 그대로의 바이오매스 또는 물리적 처리만 된 바이오매스를 이용하는 것이다. 기존의 방법들에 따르면, 바이오매스의 과격한 전처리 단계를 포함한다. 예를 들어, 산 또는 알칼리로 바이오매스를 전처리하는 단계를 포함하며, 이 경우 과분해 산물 및 불순물들이 발생하고, 환경 오염 문제, 공정의 복잡성 등의 문제점을 야기한다.
- [0022] 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 단계 (a)의 바이오매스는 자연 상태 그대로의 바이오매스 또는 물리적 처리만 된 바이오매스이다. 상기 물리적 처리만 된 바이오매스는 천연의 바이오매스에 간단한 물리적 처리, 예컨대, 절단화, 절편화, 분말화, 건조 등의 처리만을 한 바이오매스를 의미한다. 상기 물리적 처리만 된 바이오매스는, 바람직하게는 건조 분말화 된 바이오매스이다.
- [0023] 본 발명에서 이용되는 바이오매스는 자연계에 존재하며 셀룰로오즈, 헤미셀룰로오즈 및 리그닌을 포함하는 다양한 바이오매스를 포함한다. 바람직하게는, 본 발명에서 이용되는 바이오매스는 바가스, 백합나무, 현사시나무, 상수리나무, 육송나무 및 왕겨로 구성된 군으로부터 선택되는 1종 이상의 식물이다.
- [0024] 본 명세서에서, 용어 ‘상온이온성액체’는 이온만으로 구성된 액체를 일컬으며, 상온에서 액체로 존재하는 이온성액체를 상온이온성액체(room temperature ionic liquid)라고 한다. 일반적으로 질소를 포함하는 거대 양이온과 보다 작은 음이온으로 이루어져 있다. 이러한 구조에 의하여 결정구조의 격자에너지가 감소하게 되고 결과적으로 낮은 녹는점을 갖는다. 상기 상온이온성액체는 하기 화학식 1로 표현되는 화합물을 1종 이상 포함할 수 있다.
- [0025] [화학식 1]
- [0026]  $[A]^+[B]^-$
- [0027] 상기 화학식 1에서,  $[A]^+$ 는 표 1의 구조식을 포함하는 화합물로 구성된 군으로부터 선택되는 1종 이상의 화합물이다.

표 1

- [0028]
- [0029] 상기 표 1의 R, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> 및 R<sub>4</sub>는 각각 독립적으로 수소, C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 알킬 및 C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub> 알켄으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있으며, 상기 알킬 또는 알켄은 설폰, 설폭사이드, 티오에스테르, 에테르, 아마이드, 히드록실 및 아민으로 이루어진 군에서 선택된 치환체에 의해 치환될 수 있다.
- [0030] 상기 화학식 1에서,  $[B]^-$ 는 Cl<sup>-</sup>, Br<sup>-</sup>, I<sup>-</sup>, OH<sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>-</sup>, CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub><sup>-</sup>, CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub><sup>-</sup>, BF<sub>4</sub><sup>-</sup>, PF<sub>6</sub><sup>-</sup>, (CF<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>)<sub>2</sub>N<sup>-</sup>, AlCl<sub>4</sub><sup>-</sup> 및 Cl<sup>-</sup>/AlCl<sub>3</sub>로 이루어진 군으로부터 선택되는 1 종 이상의 화합물이다. 예컨대, 이러한 화합물로는, 1-부틸-3-메틸 이미다졸리움 테트라클로로알루미늄에이트, 1-에틸-3-메틸 이미다졸리움 테트라클로로알루미늄에이트, 1-에틸-3-메틸 이미다졸리움 하이드로젠설페이트, 1-부틸-3-메틸 이미다졸리움 하이드로젠설페이트, 메틸이미다졸리움 클



로라이드, 1-에틸-3-메틸 이미다졸리움 아세테이트, 1-부틸-3-메틸 이미다졸리움 아세테이트, 트리스-2(하이드록시 에틸) 메틸암모늄 메틸설페이트, 1-에틸-3-메틸 이미다졸리움 에틸설페이트, 1-에틸-3-메틸 이미다졸리움 메탄설포네이트, 메틸-트리-n-부틸암모늄 메틸설페이트, 1-부틸-3-메틸 이미다졸리움 클로라이드, 1-에틸-3-메틸 이미다졸리움 클로라이드, 1-에틸-3-메틸 이미다졸리움 티오시아네이트, 1-부틸-3-메틸 이미다졸리움 티오시아네이트, 1-아릴-3-메틸 이미다졸리움 클로라이드, 이들의 혼합물 및 복합체가 있으며, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0031] 상기 이온성 액체는 시판 제품을 사용할 수도 있는 바, 예컨대, 1-에틸-3-메틸이미다졸리움 아세테이트, 1-부틸-3-메틸이미다졸리움 아세테이트, 1-에틸-3-메틸이미다졸리움 클로라이드, 1-부틸-3-메틸이미다졸리움 클로라이드, 1-메틸이미다졸리움 클로라이드, 1-에틸-2,3-디메틸이미다졸리움 에틸설페이트, 1,2,3-트리메틸이미다졸리움에틸설페이트, 1-에틸-3-메틸이미다졸리움설페이트, 1-아릴-3-메틸이미다졸리움 클로라이드, 1-벤질-3-메틸이미다졸리움 클로라이드, 1-헥실-3-메틸이미다졸리움 클로라이드, 1-메틸-3-옥틸이미다졸리움 클로라이드, 1-에틸-3-메틸이미다졸리움 토실레이트, 1-에틸-1-메틸피롤리디늄 브로마이드, 1-에틸-3-메틸이미다졸리움 브로마이드, 1-부틸-1-메틸피롤리디늄 클로라이드, 1-부틸-2,3-디메틸이미다졸리움 클로라이드, N-부틸피롤리디늄 클로라이드, 3-메틸-N-푸틸피롤리디늄 클로라이드, 1-에틸이미다졸리움 나이트레이트, 1-메틸이미다졸리움 브로마이드, 1-메틸이미다졸리움 클로라이드, 1-에틸이미다졸리움 브로마이드, 1-에틸이미다졸리움 클로라이드 및 1,2-디메틸이미다졸리움 클로라이드(표 2)등이 있으며, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0032] 이러한 이온성액체는 셀룰로오스의 히드록실기 사이의 복잡한 수소결합을 방해하게 되고, 이온성 액체 중의 음이온은 셀룰로오스의 히드록실기의 수소와 결합하고, 양이온은 셀룰로오스의 히드록실기의 산소와 결합함으로써 셀룰로오스를 용해시킨다. 상기 이온성 액체의 첨가량은 특별히 제한되지 않으며 고형 성분의 함량 대비 5 내지 20배로 첨가될 수 있다.

[0033] 바람직하게는, 상기 바이오매스는 바가스이고 상기 상온이온성액체는 1-에틸-3-메틸 이미다졸리움, 1,2,3-트리메틸 이미다졸리움 메틸 설페이트, 1-에틸 이미다졸리움 니트레이트, 1-메틸 이미다졸리움 클로라이드 또는 1-에틸 이미다졸리움 브로마이드이며, 또는 상기 바이오매스는 백합나무이고 상기 상온이온성액체는 1-에틸-3-메틸 이미다졸리움, 1-부틸-3-메틸 이미다졸리움, 1-에틸-3-메틸 이미다졸리움 클로라이드, 1-에틸 이미다졸리움 브로마이드 또는 1-에틸-이미다졸리움 클로라이드이며, 또는 상기 바이오매스는 현사시나무이고 상기 상온이온성액체는 1-부틸-3-메틸 이미다졸리움이며, 또는 상기 바이오매스는 상수리나무이고 상기 상온이온성액체는 1,2,3-트리메틸 이미다졸리움 메틸 설페이트이며, 또는 상기 바이오매스는 육송이고 상기 상온이온성액체는 1-메틸 이미다졸리움 클로라이드 또는 1-에틸-이미다졸리움 클로라이드이며, 또는 상기 바이오매스는 왕겨이고 상기 상온이온성액체는 1-메틸 이미다졸리움 클로라이드이다.

[0034] 단계 (b): 셀룰로오스의 재결정화

[0035] 다음, 바이오매스에 처리된 상온이온성액체를 제거하여 셀룰로오스를 재결정화한다.

[0036] 바람직하게는, 상기 단계 (b)의 상온이온성액체의 제거는 안티솔벤트(antisolvent)를 처리하여 실시한다. 상기 안티솔벤트는 물 및 1 내지 10 개의 탄소 원자를 갖는 알칸올(alkanol), 3 내지 10 개의 탄소 원자를 갖는 케톤(ketone), 5 내지 10 개의 탄소원자를 갖는 알칼리(alkali) 및 이의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 하나의 화합물을 포함하고, 예컨대, 이산화탄소, 물, 암모니아, 질소, 아산화질소, 메탄, 에탄, 에틸렌, 프로판, 부탄, n-펜탄, 벤젠, 메탄올, 에탄올, 이소프로판올, 이소부탄올, 모노플루오로메탄(monofluoromethane), 트리플루오로메탄, 클로로트리플루오로메탄, 헥사플루오로에탄, 1,1-디플루오로에틸렌, 1,2-디플루오로에틸렌, 톨루엔, 피리딘, 사이클로헥산, m-크레솔, 디칼린, 사이클로헥산올, 0-자일렌, 테트라린, 아닐린(aniline), 아세틸린, 클로로트리플루오로실란, 제논, 설페 헥사플로라이드, 프로판 및 이의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 최소 1종의 화합물이다.

[0037] 보다 바람직하게는, 본 발명의 안티솔벤트는 메탄올이다.

[0038] 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 안티솔벤트를 첨가하여 침전을 유도하고 증류수로 수차례 세척하여 상온이온성액체를 제거하여 재결정화된 셀룰로오스를 수득한다.

[0039] 본 명세서에서, 용어 ‘재결정화된 셀룰로오스’는 상온이온성액체에 의해 셀룰로오스의 히드록실기 사이의 복잡한 수소결합을 방해하게 되고, 상온이온성액체 중의 음이온은 셀룰로오스의 히드록실기의 수소와 결합하고, 양

이온은 셀룰로오스의 히드록실기의 산소와 결합함으로써 용해된 셀룰로오스이다.

[0040] 단계 (c): 글루코오스의 수득

[0041] 마지막으로, 단계 (b)에서 수득한 재결정화된 셀룰로오스에 셀룰라아제를 처리하여 글루코오스를 수득한다. 셀룰라아제 처리 공정의 조건은 통상적인 효소 반응 조건에서 실시한다. 예를 들어, 25-40℃, 바람직하게는 35-37℃의 반응온도에서 셀룰로오스에 셀룰라아제를 10-50시간, 바람직하게는 20-30시간 처리하여 글루코오스를 수득한다.

[0042] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명의 방법에 의해 제조된 글루코스를 제공한다.

[0043] 본 발명의 글루코오스는 상기 바이오매스로부터 제조한 글루코오스로, 이 둘 사이에 공통된 내용은 본 명세서의 과도한 복잡성을 피하기 위하여, 그 기재를 생략한다.

**발명의 효과**

[0044] 본 발명의 특징 및 이점을 요약하면 다음과 같다:

[0045] (a) 본 발명은 자연상태의 바이오매스에 상온이온성액체를 처리하여 글루코오스를 제조하는 방법을 제공한다.

[0046] (b) 본 발명은 기존의 복잡한 전처리과정에서 발생할 수 있는 과분해 산물 및 불순물의 영향을 배제함은 물론 공정의 단순화, 상온이온성액체의 재활용으로 경비절감 및 환경오염 배제, 상온에서 이루어지기 때문에 전처리 공정으로 소비되는 에너지의 절약, 당화활성의 증대효과를 동시에 얻을 수 있다.

[0047] (c) 본 발명을 통해 제조된 글루코스는 각종 바이오화학물질을 생산할 수 있는 발효공정과 직접적으로 연계하여 당화발효 동시공정 또는 당화발효 연속공정으로 활용하는데 크게 기여할 것이다.

**도면의 간단한 설명**

[0048] 도 1은 바가스에 대한 당화효율 증대용 이온성액체 선발에 관한 결과로, 상온이온성 액체에 침지 및 교반하고 상온이온성 액체를 제거한 바가스에 대한 셀룰라아제의 당화효율을 측정한 결과를 보여준다.

도 2는 백합나무에 대한 당화효율 증대용 이온성액체 선발에 관한 결과로, 상온이온성 액체침지 및 교반하고 상온이온성 액체를 제거한 백합나무에 대한 셀룰라아제의 당화효율을 측정한 결과를 보여준다.

도 3은 현사시나무에 대한 당화효율 증대용 이온성액체 선발에 관한 결과로, 상온이온성 액체에 침지 및 교반하고 상온이온성 액체를 제거한 현사시나무에 대한 셀룰라아제의 당화효율을 측정한 결과를 보여준다.

도 4는 상수리나무에 대한 당화효율 증대용 이온성액체 선발에 관한 결과로, 상온이온성 액체에 침지 및 교반하고 상온이온성 액체를 제거한 상수리나무에 대한 셀룰라아제의 당화효율을 측정한 결과를 보여준다.

도 5는 육송나무에 대한 당화효율 증대용 이온성액체 선발에 관한 결과로, 상온이온성 액체에 침지 및 교반하고 상온이온성 액체를 제거한 육송나무에 대한 셀룰라아제의 당화효율을 측정한 결과를 보여준다.

도 6은 왕겨에 대한 당화효율 증대용 이온성액체 선발에 관한 결과로, 상온이온성 액체에 침지 및 교반하고 상온이온성 액체를 제거한 왕겨에 대한 셀룰라아제의 당화효율을 측정한 결과를 보여준다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0049] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.



[0050] 실시예

[0051] 실시예 1: 이온성 액체를 이용한 바이오매스 용해

[0052] 바이오매스별 이온성 액체 선발시험은 시판되는 이온성 액체 25종(표 2)을 구입하여 바가스(Bagasse), 백합나무(*Yellow poplar*), 현사시(*Hybrid poplar*), 상수리(*Quercus acutissima*), 육송(Terrestrial pine) 및 왕겨(Rice hull)의 잎을 제외한 줄기부분을 바이오매스의 대상으로 수행하였다. 상기 바이오매스는 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스 및 리그닌을 포함한다. 시료를 60℃에서, 24시간 동안 건조 시킨 후 막자사발(일반 분쇄기)을 이용하여 곱게 분말화한 후 250 μm의 거름 채(표준망 채)를 이용하여 정선 사용하였다. 5.0 ml의 시험관에 1.8 ml (g) 이온성 액체를 넣고 90℃ 수조에서 중탕으로 이온성 액체를 용해시킨 후 바이오매스 0.2 g를 넣고 빠른 시간 안에 교반하여 가급적 균일하게 분산시킨 후 90℃ 수조에서 약 3시간동안 중탕으로 용해하고 65℃ 오븐에서 밤새 가열하여 완전용해하였다.

표 2

[0053]

번호	이름	성상	제조사
1	1-에틸-3-메틸 이미다졸리움 (acetate1-Ethyl-3-methyl imidazolium acetate)	액상	BASF
2	1-부틸-3-메틸 이미다졸리움 (acetate1-Buthyl-3-methyl imidazolium acetate)	액상	BASF
3	1-에틸-3-메틸 이미다졸리움 클로라이드 (1-Ethyl-3-methyl imidazolium chloride)	고상	BASF
4	1-부틸-3-메틸 이미다졸리움 클로라이드 (1-Buthyl-3-methyl imidazolium chloride)	고상	BASF
5	1-메틸 이미다졸리움 클로라이드 (1-Methyl imidazolium chloride)	고상	BASF
6	1-에틸-2,3-디메틸 이미다졸리움 에틸 설페이트 (1-Ethyl-2,3-dimethyl imidazolium ethyl sulfate)	고상	BASF
7	1,2,3-트리메틸 이미다졸리움 메틸 설페이트 (1,2,3-Trimethyl imidazolium methyl sulfate)	고상	BASF
8	1-에틸-3-메틸 이미다졸리움 에틸 설페이트 (1-Ethyl-3-methyl imidazolium ethyl sulfate)	액상	BASF
9	1-알릴-3-메틸 이미다졸리움 클로라이드 (1-Allyl-3-methyl imidazolium chloride)	고상	독일
10	1-벤질-3-메틸 이미다졸리움 클로라이드 (1-Benzyl-3-methyl imidazolium chloride)	젤리상	오스트리아
11	1-헥실-3-메틸 이미다졸리움 클로라이드 (1-Hexyl-3-methyl imidazolium chloride)	젤리상	독일
12	1-메틸-3-옥틸 이미다졸리움 클로라이드 (1-Methyl-3-octyl imidazolium chloride)	젤리상	독일
13	1-에틸-3-메틸 이미다졸리움 토실레이트 (1-Ethyl-3-methyl imidazolium tosylate)	액상	독일
14	1-에틸-1-메틸 피롤리디늄 브로마이드 (1-Ethyl-1-methyl pyrrolidinium bromide)	고상	독일
15	1-에틸-3-메틸 이미다졸리움 브로마이드 (1-Ethyl-3-methyl imidazolium bromide)	고상	독일
16	1-부틸-1-메틸 피롤리디늄 클로라이드 (1-Butyl-1-methyl pyrrolidinium chloride)	고상	독일
17	1-부틸-2,3-디메틸 이미다졸리움 클로라이드 (1-Butyl-2,3-dimethyl imidazolium chloride)	고상	독일
18	N-부틸 피리디늄 클로라이드 (N-Butyl pyridinium chloride)	고상	독일
19	3-메틸-N-부틸 피리디늄 클로라이드 (3-Methyl-N-butyl pyridinium chloride)	고상	독일

20	1-에틸 이미다졸리움 니트레이트 (1-Ethyl imidazolium nitrate)	액상	독일
21	1-메틸 이미다졸리움 브로마이드 (1-Methyl imidazolium bromide)	고상	독일
22	1-메틸 이미다졸리움 클로라이드 (1-Methyl imidazolium chloride)	고상	독일
23	1-에틸 이미다졸리움 브로마이드 (1-Ethyl imidazolium bromide)	고상	독일
24	1-에틸-이미다졸리움 클로라이드 (1-Ethyl-imidazolium chloride)	고상	독일
25	1,2-디메틸 이미다졸리움 클로라이드 (1,2-Dimethyl imidazolium chloride)	고상	독일

[0054] 5번 및 22번 이온성액체는 동일한 이온성액체로, 5번은 95%의 순도이며, 22번은 98%순도를 갖는다. 고상 또는 젤리상인 이온성액체는 90℃이상의 온도에서 대부분 용해됨, 용해되지 않는 IL이 몇 종류 되나 소량의 증류수를 첨가하여 용해하였다.

[0055] **실시예 2: 바이오매스의 회수 및 셀룰라아제에 의한 당화효율 측정**

[0056] 상온 이온성 액체는 메탄올(MeOH) 등의 안티솔벤트(antisolvent)를 첨가하여 침전을 유도시키고 증류수로 수차례 세척하여 상온이온성 액체를 제거하고 고형물을 획득 건조하여 당화에 사용하였다. 이때 열을 가하여 상온 이온성 액체를 더욱 쉽게 제거하였다. 상온이온성 액체로 용해시킨 후, 재결정한 바이오매스에 대한 셀룰라아제의 당화효율을 측정하기 위해 재결정한 바이오매스(예컨대, 바가스, 백합나무, 현사시나무, 상수리나무, 옥송 또는 왕겨) 0.5% 및 0.6 유니트(units)의 셀룰라아제(시그마알드리치 사)를 혼합한 후 37℃에서 24시간 반응 후 생성된 환원당을 DNS(3,5-dinitrosalicylic acid) 발색법으로 측정하였다. 반응이 끝난 용액을 14,000 rpm로 원심분리를 실시하고 수득한 상층액 100 μl에 DNS용액 200 μl를 잘 혼합한 후 95℃ 항온조(water bath)에서 5분간 발색하여 생성된 환원당과 3,5-디니트로살리실산(3,5-dinitrosalicylic acid)가 반응하여 3-아미노-5-니트로살리실산(3-amino-5-nitrosalicylic acid)이 되는 것을 이용하여 환원당 량을 측정하였다.

[0057] **실시예 3: 바가스(Bagasse)용 이온성 액체 선발**

[0058] 도 1에서 확인할 수 있듯이, 증류수를 처리 0번 및 이온성액체를 처리한 1번 내지 25번의 경우, 증류수 또는 이온성액체가 바가스에 첨가되고 혼합되면 전반적으로 검은 색상으로 변화하였다. 정선된 바가스 자체도 흰색이 아닌 흑갈색을 나타냈다. 0번의 경우, 증류수만 첨가되었으며 바가스는 물을 충분히 흡수하였고 바닥으로 가라앉았으며 상층액은 옅은 갈색을 나타내었다. 1, 2, 9, 11, 12 및 24번의 경우, 이온성액체는 상온에서 유동성을 가지며 짙은 갈색을 띠었고 바가스를 용해시킨 것으로 판단되었다. 3, 4, 10, 16 및 17번의 경우, 이온성 액체는 상온에서 굳으며 짙은 갈색을 띠었고 바가스를 용해시킨 것으로 판단되었다. 5번의 경우, 이온성 액체는 상온에서 유동성을 가지며 짙은 갈색을 띠면서 바가스를 부풀게 한 것으로 판단되었다. 6, 8, 19, 20, 21 및 23번의 경우, 이온성 액체는 상온에서 유동성을 가지며 짙은 갈색을 띠면서 층 분리가 일어났고 바가스를 용해하지 못하였다. 7, 13, 14, 15, 18, 22 및 25번의 경우, 이온성 액체는 상온에서 굳으며 짙은 갈색을 띠면서 바가스를 용해하지 못하였다. 이들을 대상으로 재결정한 바가스의 당화효율을 30% 이상 증진시키는 이온성 액체는 1, 2, 5, 7, 20, 22, 23 및 24번이었다. 특히 1, 7, 20, 22 및 23번 이온성액체는 당화효율 증진 효과가 상대적으로 매우 높았다.

[0059] **실시예 4: 백합나무(Yellow poplar)용 이온성 액체 선발**

[0060] 도 2에서 확인할 수 있듯이, 증류수만 첨가된 0번의 경우, 백합나무는 물을 충분히 흡수하였고 바닥으로 가라앉았으며 상층액도 옅은 노란색을 띠었다. 1, 2, 9, 18 및 19번의 경우, 이온성액체는 상온에서 유동성을 가지며 짙은 갈색을 띠면서 백합나무를 용해시킨 것으로 판단되었다. 3, 4, 7, 10 및 16번의 경우, 이온성액체는 상온에서 굳으며 옅은 갈색을 띠고 백합나무를 용해시킨 것으로 판단되었다. 5, 6, 8, 11, 12, 13, 14, 15 및

20번의 경우, 이온성액체는 상온에서 유동성을 가지며 열은 갈색을 띠며 층 분리가 일어나는 것으로 보아 백합 나무를 용해시키지 못한 것으로 판단되었다. 17, 21, 22, 23, 24 및 25번의 경우, 이온성액체는 상온에서 굳 으며 열은 갈색을 띠고 백합나무를 용해시키지 못하였다. 이들을 대상으로 재결정한 백합나무의 당화효율을 30% 이상 증진시키는 이온성 액체는 1, 2, 3, 23 및 24번이었다.

[0061] **실시예 5: 현사시나무(Hybrid poplar)용 이온성 액체 선발**

[0062] 도 3에서 확인할 수 있듯이, 증류수만 처리된 0번의 경우, 침지된 현사시나무는 물을 충분히 흡수하였고 바닥으로 가라앉았으며 상층액은 투명하였다. 1, 2 및 10번의 경우, 이온성액체는 상온에서 굳으며 열은 갈색을 띠고 현사시나무를 용해시킨 것으로 판단되었다. 16 및 19번의 경우, 이온성액체는 상온에서 유동성을 가지며 짙은 갈색을 띠면서 현사시나무를 용해시킨 것으로 판단되었다. 5, 6, 8, 13 및 20번의 경우, 이온성액체는 상온에서 유동성을 가지며 열은 갈색을 띠며 층 분리가 일어나는 것으로 보아 현사시나무를 용해시키지 못한 것으로 판단되었다. 3, 4, 7, 9, 11, 12, 14, 15, 17, 18, 21, 22, 23, 24 및 25번의 경우, 이온성액체는 상온에서 굳으며 열은 갈색을 띠고 현사시나무를 용해시키지 못하였다. 이들을 대상으로 재결정한 현사시나무의 당화효율을 30% 이상 증진시키는 이온성 액체는 1, 2 및 24번이었다. 특히 2번의 경우, 이온성액체에 의한 당화효율 증진효과가 가장 높았다.

[0063] **실시예 6: 상수리나무용 이온성 액체 선발**

[0064] 도 4에서 확인할 수 있듯이, 증류수만 처리된 0번의 경우, 상수리나무는 물을 충분히 흡수하였고 바닥으로 가라 앉았으며 상층액은 열은 갈색을 띠었다. 1, 2, 3 및 10번의 경우, 이온성액체는 상온에서 굳으며 갈색을 띠고 상수리나무를 용해시킨 것으로 판단되었다. 4, 5, 9, 11 및 24번의 경우, 이온성액체는 상온에서 유동성을 가 지며 갈색을 띠면서 상수리나무를 용해시킨 것으로 판단되었다. 8, 12, 13, 14, 16, 18, 19, 20 및 23번의 경 우, 이온성액체는 상온에서 유동성을 가지며 열은 갈색을 띠며 층 분리가 일어나는 것으로 보아 상수리나무를 용해시키지 못한 것으로 판단되었다. 6, 7, 15, 17, 21, 22 및 25번의 경우, 이온성액체는 상온에서 굳으며 열은 갈색을 띠고 상수리나무를 용해시키지 못하였다. 이들을 대상으로 재결정한 상수리나무의 당화효율을 30% 이상 증진시키는 이온성 액체는 1, 2 및 7번이었다. 특히 7번 이온성액체에 의한 당화효율 증진효과가 가 장 높았다.

[0065] **실시예 7: 육송(Terrestrial pine)용 이온성 액체 선발**

[0066] 도 5에서 확인할 수 있듯이, 증류수만 첨가된 0번의 경우, 육송은 물을 충분히 흡수하였고 바닥으로 가라앉았으 며 상층액은 열은 갈색을 띠었다. 1, 2, 3 및 10번의 경우, 이온성액체는 상온에서 굳으며 갈색을 띠고 완벽 하지는 않지만 어느 정도 육송을 용해시킨 것으로 판단되었다. 4, 5, 9 및 24번의 경우, 이온성액체는 상온에 서 유동성을 가지며 갈색을 띠면서 육송을 용해시킨 것으로 판단되었다. 8, 11, 12, 13, 14, 16, 18, 19, 20 및 23번의 경우, 이온성액체는 상온에서 유동성을 가지며 열은 갈색을 띠며 층 분리가 일어나는 것으로 보아 육 송을 용해시키지 못한 것으로 판단되었다. 6, 7, 15, 17, 21, 22 및 25번의 경우, 이온성액체는 상온에서 굳 으며 열은 갈색을 띠고 육송을 용해시키지 못하였다. 이들을 대상으로 재결정한 육송의 당화효율을 30% 이상 증진시키는 이온성액체는 3, 4, 5, 24 및 25번 이온성액체였다. 특히 5 및 24번 이온성액체에 의한 당화효율 증진효과가 가장 높았다.

[0067] **실시예 8: 왕겨(Rice hull)용 이온성 액체 선발**

[0068] 도 6에서 확인할 수 있듯이, 증류수만 첨가된 0번의 경우, 왕겨는 물을 충분히 흡수하였고 바닥으로 가라앉았으 며 상층액은 열은 갈색을 띠었다. 1, 2, 5, 9, 11, 19, 21 및 24번의 경우, 이온성액체는 상온에서 유동성을 가 지며 갈색을 띠면서 왕겨를 용해시킨 것으로 판단되었다. 3, 4, 8, 12, 13, 14, 16, 18, 20, 22 및 23번의 경 우, 이온성액체는 상온에서 유동성을 가지며 열은 갈색을 띠며 층 분리가 일어나는 것으로 보아 왕겨를 용해 시키지 못한 것으로 판단되었다. 6, 7, 10, 15, 17, 25번의 경우, 이온성액체는 상온에서 굳으며 열은 갈색 을 띠고 왕겨를 용해시키지 못하였다. 이들을 대상으로 재결정한 왕겨의 당화효율을 30% 이상 증진시키는 이

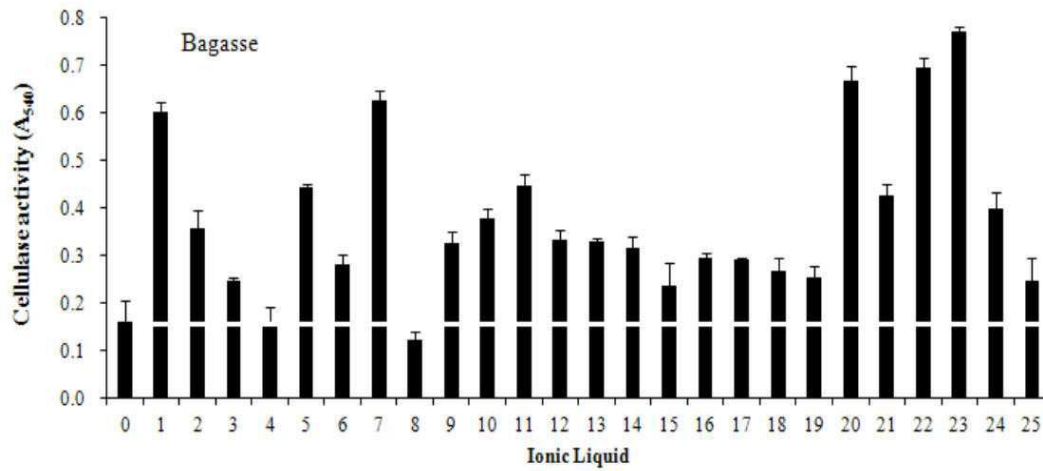
온성 액체는 1, 2 및 5번이었다. 특히 5번 이온성액체에 의한 당화효율 증진효과가 가장 높았다.

[0069]

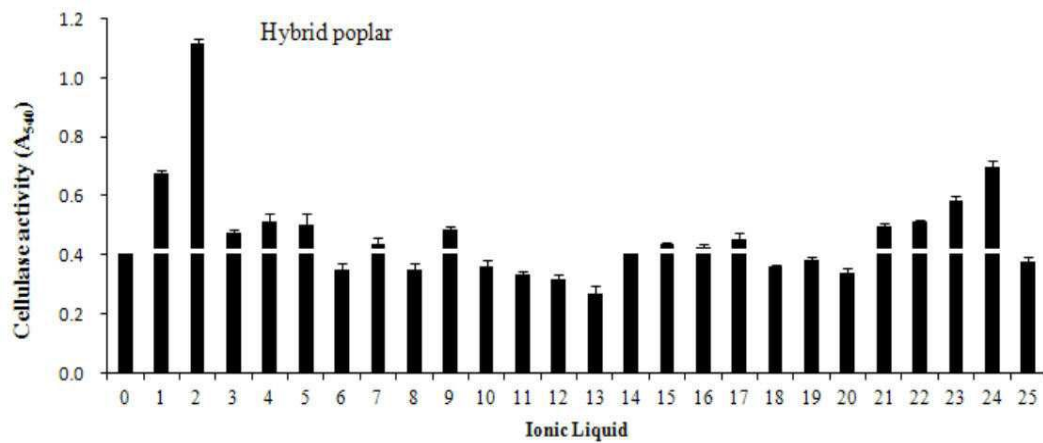
이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

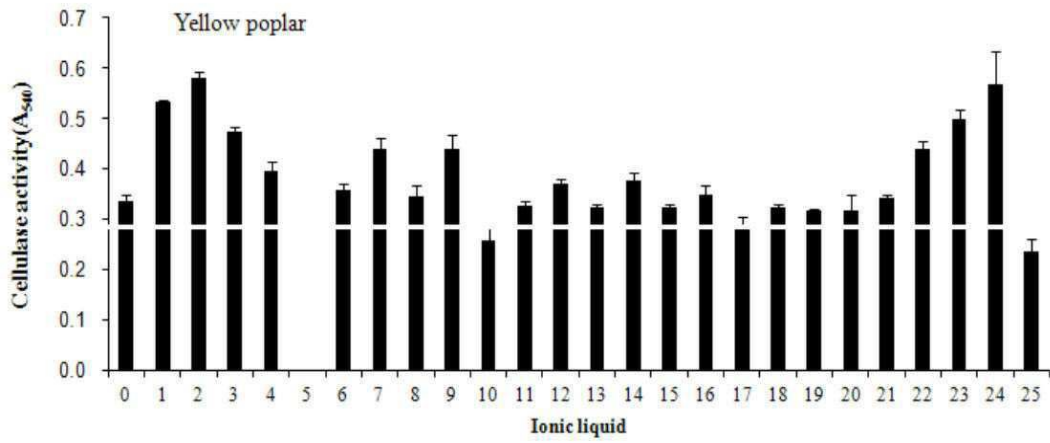
도면1



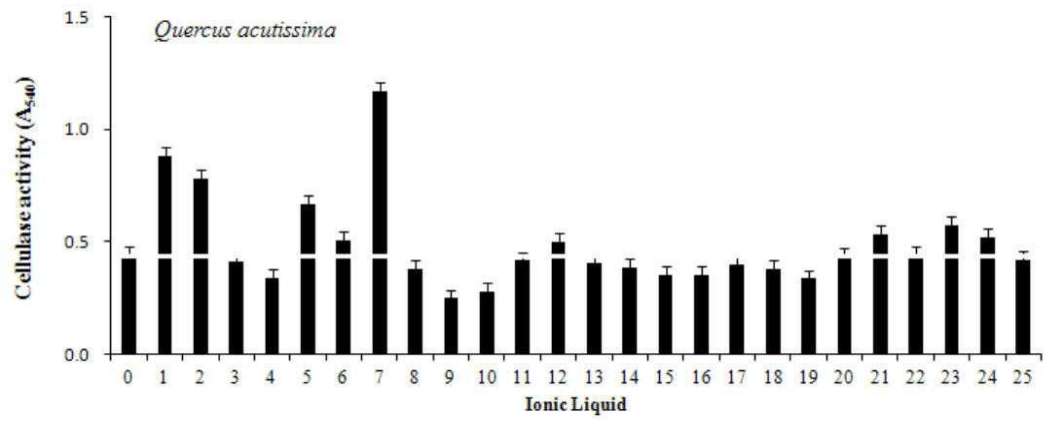
도면2



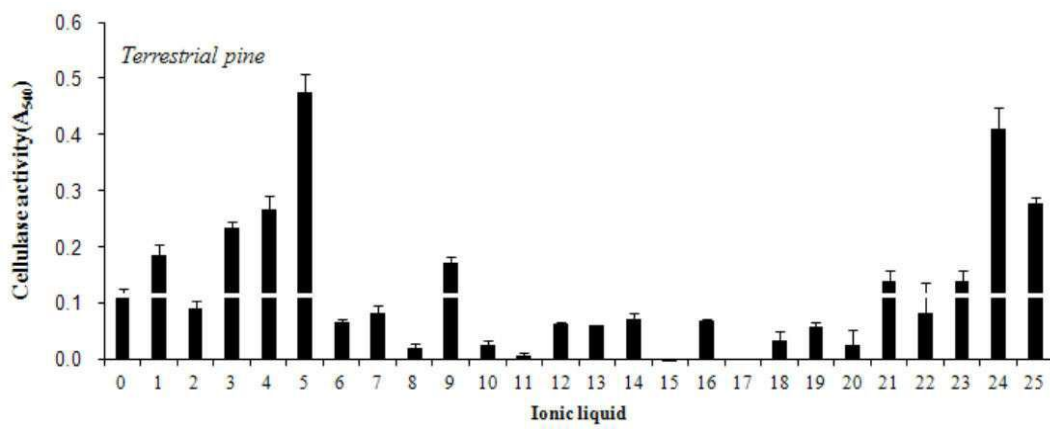
도면3



도면4



도면5



도면6

