

## Sorbitan acrylate의 Novozym 435를 이용한

### 효소적 합성에 관한 연구

임근길<sup>1</sup>, 김인홍<sup>2</sup>, 이광연<sup>3</sup>, 강춘형<sup>1</sup>, 박돈희<sup>1,4,5</sup>

전남대학교 화학공학부<sup>1</sup>, 대한진공사<sup>2</sup>, 동아인재대학 안경광학과<sup>3</sup>,

전남대학교 생산업기술연구소<sup>4</sup>, 촉매연구소<sup>5</sup>

#### Abstract

The esterification reaction of previously obtained 1,4-sorbitan with acrylic acid using Novozym 435 was carried out in *t*-butanol as solvent. Immobilized lipase Novozym 435 showed high enzymatic activity at 50°C in *t*-butanol and optimum contents of Novozym 435 added in the esterification reaction was 3%(w/v). The maximum conversion rate was 55.8% when initial concentration was 50g/L and conversion rate of this reaction was 63.5% when the molar ratio of 1,4-sorbitan to acrylic acid was 1:3.

#### 서론

최근 의용공학 분야의 광학재료와 생체재료분야에서는 고기능성 복합소재로 당 고분자(sugar polymer)를 중심으로 새로운 연구가 이루어지고 있다(1). 광학활성 재료로서 바람직한 생체 공학적 특성을 나타내기 위해서는 그 구조 내에 수산기, 카르복실기와 같은 친수성 그룹으로 고분자 골격을 이루는 탄소의 소수성을 제어하여야 이상적인 생체재료가 되는 것으로 알려져 있다(2). 친수성을 공유한 광학재료로 이용할 수 있는 단량체로는 아크릴계열의 모노머가 많이 이용되고 있는데, 최근 당 분자의 수산기로 아크릴 관능기를 배당화한 당고분자가 의용공학적 특성이 우수하여 인공수정체와 콘택트렌즈용 소재로서 활용하기 위한 연구가 시도되고 있다(3). 의용공학적 생체재료는 생체친화성과 생체안전성이 우선 시 되어야 하는데(4, 5), 효소반응기술의 발전과 함께 효소 촉매의 위치특이성(regio-selectivity)과 입체특이성(stereoselectivity)을 이용하면 인체에 유해한 아노머(anomer)의 생성을 방지할 수 있고 생체재료의 변성과 열화가 일어나지 않도록 온화한 반응조건을 설정할 수 있다는 점에서 효소촉매반응이 유망하다고 판단된다(6).

본 연구에서는 이 실험에 앞서 화학적 방법으로 최적의 조건에서 생성된 1,4-Sorbitan(1,4-anhydro-D-sorbitol)을 배당화제로 하여 아크릴산을 유기상에서 효소적으로 에스테르화(esterification)하여 콘택트렌즈와 인공수정체 재료용 모너머로 의용공학적 및 생체공학적 응용성이 기대되는 Sorbitan acrylate의 화학-효소적 합성공정을 개발하고 최적화하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 효소반응의 최적온도 조건

*t*-butanol을 반응매질로 사용하여 1,4-sorbitan을 50g/L로 제조하여 중합방지제로 hydroquinone을 0.05%(w/v)를 첨가하고 acrylic acid를 sorbitan과 1:1의 몰비로 첨가하였다. 이렇게 제조된 반응물 10mL를 반응기에 넣은 후 고정화 리파제 (Novozym 435)를 1%(w/v)를 넣어 40°C, 50°C, 60°C에서 반응을 교반속도 200rpm으로 36시간 동안 진행하여 최대의 활성을 보이는 온도를 이 효소반응의 최적온도로 결정하였다.

### 최적 효소량

효소적 합성공정이 화학적 합성공정에 대하여 경제성을 확보하기 위해서는 가능한 효소 첨가량이 최소화되고 최적화되어야 한다. 최적의 효소량을 알아보기 위하여 실험 결과에서 얻어진 최적온도 50°C에서 반응체적에 대한 중량백분율로 0.5%에서 5.0%까지 첨가하고 교반속도 200rpm에서 40시간동안 반응을 진행시킨 후 전환율을 측정하여 최적 효소량을 결정하였다.

### 초기농도

고정화 리파제(Novozym 435)를 이용한 sorbitan과 아크릴산의 합성 공정에서 초기농도의 영향을 알아보기 위하여 50°C에서 3%(w/v)의 효소를 첨가하고 sorbitan의 초기농도를 25g/L, 50g/L, 100g/L, 150g/L, 200g/L로 하여 아크릴산과 1:1몰로 혼합하고 교반속도 200rpm으로 40시간 동안 반응을 진행하여 반응전환율에 미치는 초기농도의 영향을 알아보았다.

### 몰비

1,4-Sorbitan에 대한 아크릴산의 이론적 몰비는 1:1이다. 하지만 반응의 전환율과 반응속도를 높게 유지하고 에스테르화 반응이 가역적임을 고려할 때 이론 몰비보다도 더 높은 몰비를 사용하여야 할 것으로 판단된다. 따라서 1,4-Sorbitan과 아크릴산의 에스테르화 반응에 미치는 몰비의 영향을 알아보기 위하여 50°C에서 3%(w/v)의 효소를 이용하여 몰비를 1:1에서 1:4로 변화를 시켜 몰비에 따른 반응속도와 전환율에 미치는 영향을 조사하였다.

### Sorbitan acrylate 생성량 측정

채취한 시료는 HPLC(CTO-10A, SHIMADZU, JAPAN)을 이용하여 Aminex HPX-87 Ion exclusion column(Bio-Red, USA)에 20  $\mu$ L의 시료를 주입하고 0.3%

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 용액(1.0mL/min)을 이동상으로 하여 RI 검출기(RID-6A, SHIMADZU)를 이용하여 컬럼온도 30°C에서 분석하였다. 배당화 전환율은 반응 전후의 배당화제 농도차로서 계산하였다.

### 결과 및 고찰

고정화 리파제 Novozym 435를 이용하여 반응매질 *t*-butanol에서 화학적 촉매반응의 생성물로 얻은 1,4-sorbitan과 아크릴산의 에스테르화 반응을 수행한 결과 50°C에서 고정화 효소는 최대활성을 나타내었다. 최적의 효소첨가량을 실험한 결과 3%(w/v)의 고정화 효소를 첨가하였을 때 최적임을 알 수 있었다. 또한 초기농도가 반응의 전환율에 미치는 영향을 조사한 결과 50g/L의 초기농도에서 55.8%의 최대 전환율을 얻을 수 있었으며, 물비를 1:3으로 하였을 때 63.5%로 최적임을 알 수 있었다.

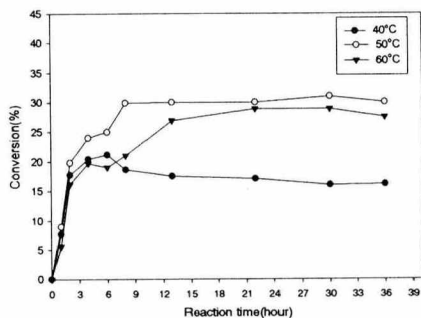


Fig. Effects of temperatures on the conversion for the production of sorbitan acrylate.

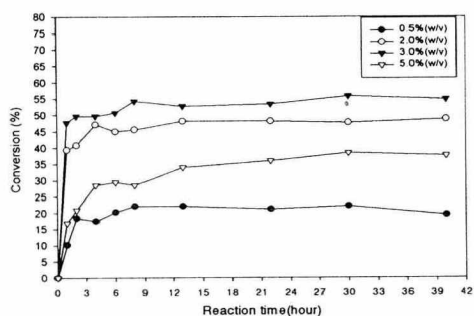


Fig. Effects of contents of Novozym 435 on the conversion for the production of sorbitan acrylate.

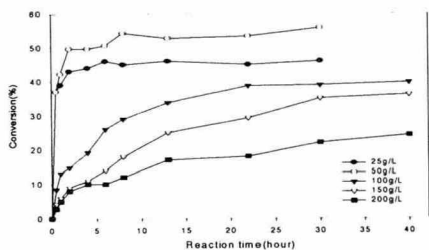


Fig. Effects of initial concentrations of 1,4-sorbitan on the conversion in lipase-catalyzed esterification of acrylic acid.

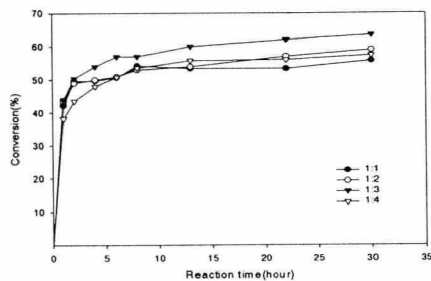


Fig. Effects of molar ratio of acrylic acid to 1,4-sorbitan on the conversion in lipase-catalyzed esterification.

## 참고문헌

- 1 Don-Hee Park and H. S. Kim(2001), "Enzymatic glycosylation of acrylic acid and methacrylic acid", *Korean, J. Biotechnol. Bioeng.*, 16(1), 82-86.
- 2 Dordick, et al(1995), "Sugar-based polymers", *U.S. Patent*, No, 5,854,030.
3. D. J. Choo(1985), "Contact lens material", *Polymer(Korea)*, 9(4), 253-260.
4. A. Schmid, J. S. Dordick, B. Hauer, A. Kiener, M. Wubbolts, and B. Witholt(2001), "Industrial biocatalysis today and tomorrow", *Nature*, 409, 258-265.
5. J. H. Heo and H. S. Kim(1998), "Enzymatic synthesis of fructose-based sugar acid ester using methyl fructoside", *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 13(6), 706-717.
6. 長田義仁, and 算内愛造 외 2명(1991), "ケル" 産業図書.