

- glucosides. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 934-935.
18. Jones J. D., A. J. Hacking, and P. S. J. Cheetham. 1992. Biological method for protection of 6-position of sucrose in synthesis of dicassharide high-intensity sweetner. *Biotechnol. Bioeng.* **39**: 203-210.
19. Wong, C. H., M. Schuster, P. Wang and P. Sears. 1993. Enzymatic synthesis of N- and O-linked glycopeptide. *J. Am. Chem. Soc.* **115**: 5893-5901.
20. Schlotterbeck, A., S. Lang, V. Wray and F. Wagner. 1993. Lipase-catalyzed monoacylation of fructose. *Biotechnol. Lett.* **15**: 61-64.
21. Kinoshita, M., S. Sakuda and Y. Yamada. 1993. Preparation of N-monoalkyl and O-acyl derivative of allosamidine and their chitinase inhibitory activity. *Biosci. Biotechnol. Bioeng.* **57**: 1699-1703.
22. Wang L. X., C. Li, Q. W. Wang and Y. Z. Hui. 1993. Total synthesis of the sulfated lipooligosaccharide signal involved in *Rhizobium Meliloti-Alfalfa* symbiosis. *Tetrahedron Lett.* **34**: 7763-7766.
23. Nakano, H., S. Takenishi and Y. Watanabe. 1988. Formation of transfer products from soybean arabinogalactan and glycerol by galactanase from *Penicillium citrinum*. *Agric. Biol. Chem.* **52**: 1913-1921.
24. Sin Y. M., S. H. Chung, J. Y. Park, and T. H. Lee. 1996. Synthesis of biodegradable emulsifier using lipase in anhydrous pyridine. *Biotechnol. Lett.* **18**: 689-694.

(Received 17 April 1997)

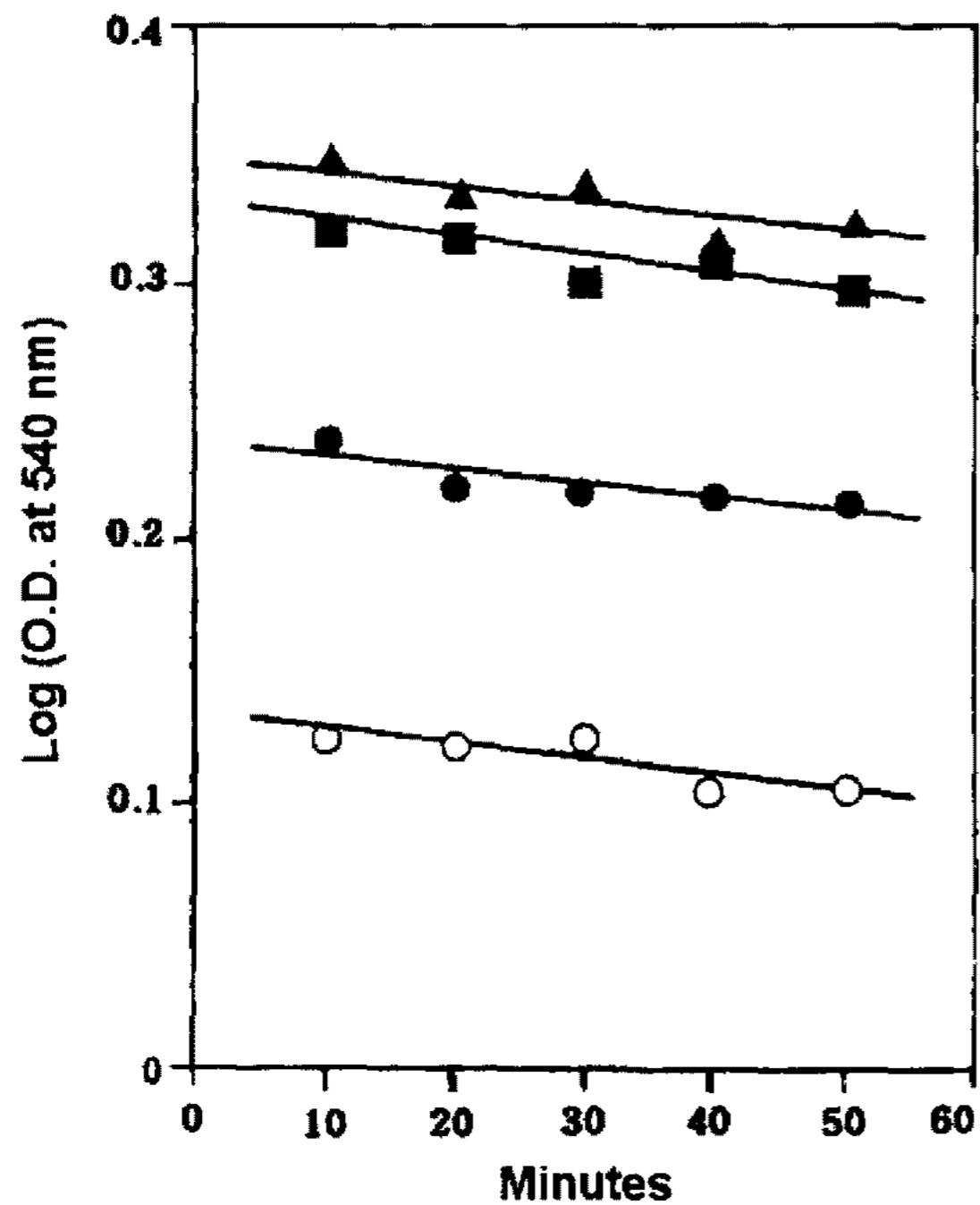


Fig. 7. Comparison of stabilization properties of synthetic bioemulsifier with other commercial emulsifiers.

●: synthetic bioemulsifier, ○: Tween 40, ▲: Triton X-100, ■: Triton X-45.

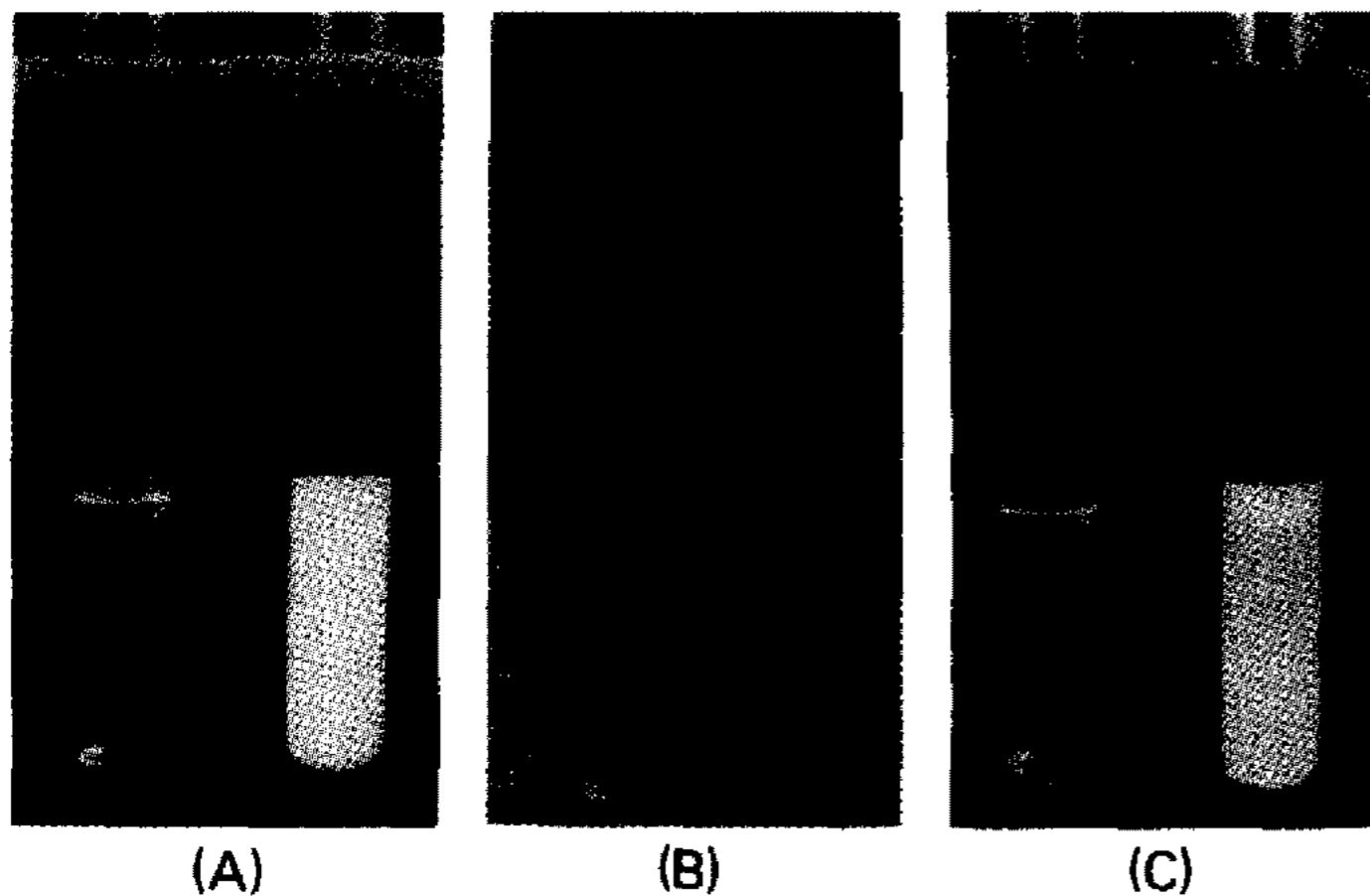


Fig. 8. Photograph of emulsion on n-hexadecane and 2-methylnaphthalene mixture (A), oman crude oil (B) and soybean oil (C).

Fig. 8은 본 합성 bioemulsifier 5% 용액(W/V) 0.1 ml를 유화기질에 첨가했을 때의 유화정도를 사진으로 나타낸 것으로 bioemulsifier를 첨가하지 않은 A는 control로서 유화기질층과 수층이 서로 분리되는데 반하여, 합성 bioemulsifier를 첨가한 B의 경우는 층의 분리 없이 완전히 유화된 상태를 유지하여 유화제로서의 우수성을 시사하였다.

감사의 말

이 연구는 1996년도 교육부 기초과학육성연구비 지원

에 의한 연구(BSRI-96-4410)로 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Drueckhammer, D. G., W. J. Hennen, R. L. Pederson, C. F. Barbas, C. M. Gautheron, T. Krach and C. H. Wong. 1991. Enzyme catalysis in synthetic carbohydrate chemistry. *Synthesis*. 499-526.
2. Otera, J. 1993. Transesterification. *Chem. Res.* **93**: 1449-1454.
3. Kirchner, G., M. P. Scollar, and A. M. Klivanov. 1985. Resolution of racemic mixture via lipase catalysis in organic solvent. *J. Am. Chem. Soc.* **107**: 7272-7276.
4. Therisod, M. and A. M. Klivanov. 1986. Facile enzymatic preparation of monoacylated sugar in pyridine. *J. Am. Chem. Soc.* **108**: 5638-5640.
5. Therisod, M. and A. M. Klivanov. 1987. Regioselective acylation of secondary hydroxyl groups in sugars catalyzed by lipase in organic solvent. *J. Am. Chem. Soc.* **109**: 3977-3982.
6. Jones, J. B. 1986. Enzymes in organic synthesis. *Tetrahedron*. **42**: 3351-3403.
7. Boland, W., C. Frobl and M. Lorenz. 1991. Esterolytic and lipolytic enzymes in organic synthesis. *Synthesis*. 1094-1099.
8. Klivanov, A. M. 1986. Enzyme that work in organic solvent. *Chemtech*. **16**: 354-359.
9. Oyama, K., S. Nishimura, Y. Nonoka and T. Hashimoto. 1981. Synthesis of an aspartame precursor by immobilized thermolysis in an organic solvent. *J. Org. Chem.* **46**: 5241-5245.
10. Nilson, K. G. I. 1988. Enzymatic synthesis of oligosaccharides. *Trends Biotechnol.* **6**: 256-263.
11. Holla, E. W. 1989. Enzymatic synthesis of selectively protected glycals. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **28**: 220-221.
12. Chinsky, N., A. L. Margolin and A. M. Klivanov. 1989. Chemoselective enzymatic monoacylation of bifunctional compounds. *J. Am. Chem. Soc.* **111**: 386-388.
13. Gabin V. and D. Thomas. 1992. Enzyme-catalyzed synthesis of alkyl β -D-glucoside in organic media. *Tetrahedron Lett.* **33**: 4567-4570.
14. Valerie L. and M. R. Willemot. 1992. Glucoside synthesis by glucoamylase or β -glucosidase in organic solvents. *Biotechnol. Lett.* **14**: 169-174.
15. Trincone A., B. Nicolaus, L. Lama and A. Gambacorta. 1991. Stereochemical studies of enzymatic transglycosylation using *Sulfolobus solfataricus*. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **1**: 2841-2844.
16. Vulfson, E. N., R. Patel and B. A. Law. 1990. Alkyl- β -glucoside synthesis in water-organic two phase system. *Biotechnol. Lett.* **12**: 397-402.
17. Bjorkling F., S. E. Godtfredsen and O. Kirk. 1989. A highly selective enzyme-catalyzed esterification of simple

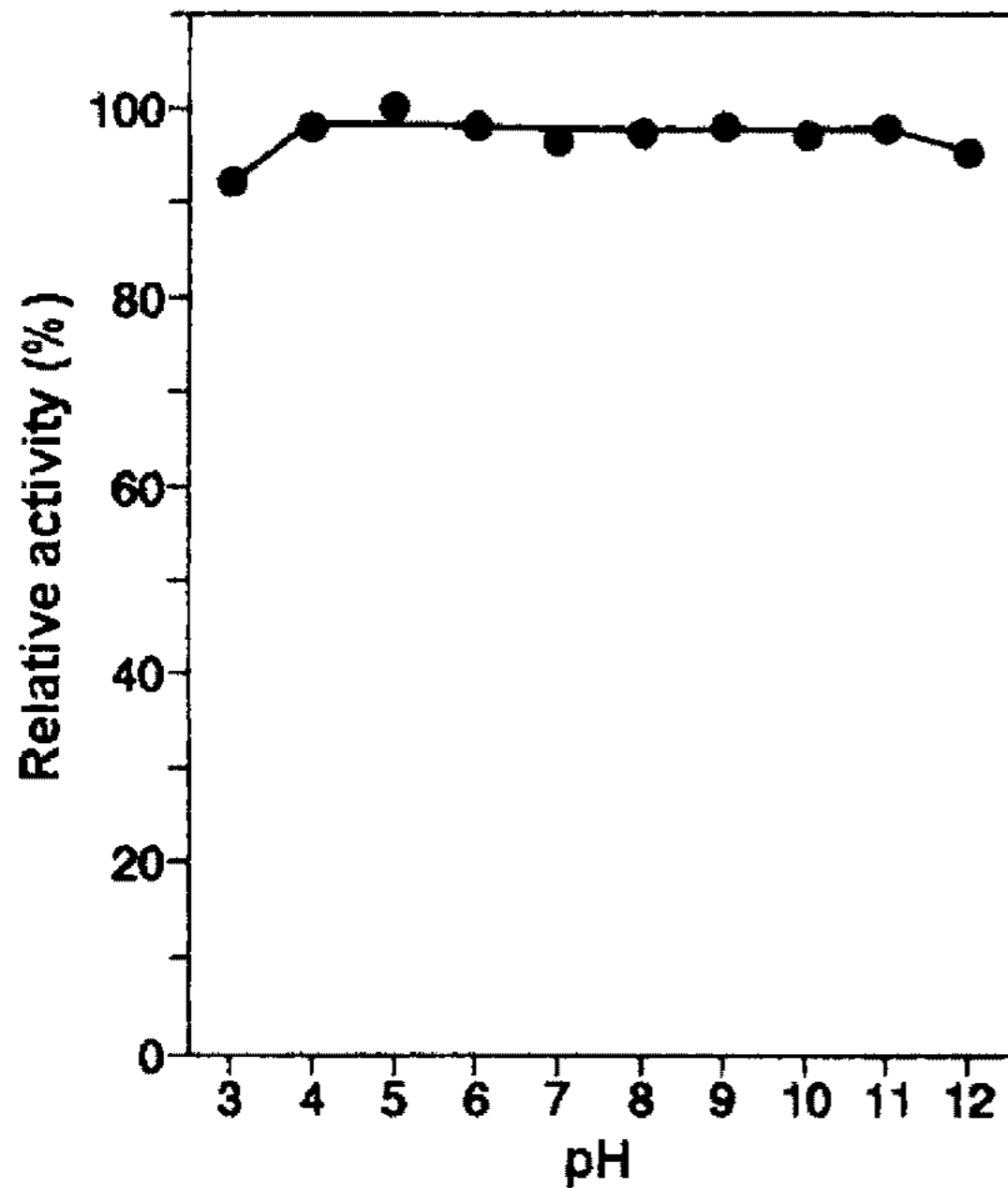


Fig. 5. Effect of pH on the bioemulsifier stability.

After the bioemulsifier solution (0.02 ml, 48.5 mg/ml) was adjusted to various pHs ranging from 3 to 12 at room temperature and stood for 48 hr, the remaining emulsification activity was measured.

질은 측정 전 pH영역에서 거의 비슷한 유화활성을 나타내어 유화활성이 pH의 영향을 거의 받지 않는 것으로 확인되었다. 일반적으로 미생물유래의 천연 bioemulsifier는 낮은 pH에서 유화활성을 가지며 pH가 높아질수록 유화활성도 낮아진다고 알려져 있다(17).

Bioemulsifier의 pH와 온도의 안정성

합성한 bioemulsifier의 pH 안정성을 조사하기 위해 수용액을 각 pH로 조절한 반응액에 첨가하여 실온에서 48시간 방치한 후 잔존 유화활성을 측정하였다. 본 합성 bioemulsifier는 Fig. 5에 나타난 결과와 같이 전 범위에서 거의 안정하였으며 pH 12에서도 90%이상의 잔존활성을 보여 주었다.

온도 안정성을 확인하기 위하여 합성 bioemulsifier를 각 온도에서 30분간 열처리한 후, 잔존활성을 측정하였다. Fig. 6에서 보는 바와 같이 이 물질은 처리 전 온도 범위에서 높은 유화활성을 나타내어 열 안정성이 대단히 높은 것으로 나타났다.

유화활성의 평가

합성 bioemulsifier의 유화활성을 비교하기 위하여 기존 emulsifier의 5%용액 (W/V) 0.1 ml와 합성 bioemulsifier 5%용액 (W/V) 0.02 ml를 첨가하여 유화활성 및 유화안정도를 측정하여 서로 비교하였다. 이때 합성물질의 유화활성이 너무 높았기 때문에 활성의 측정시 기존 emulsifier의 농도를 합성 bioemulsifier의 농도보다 5배

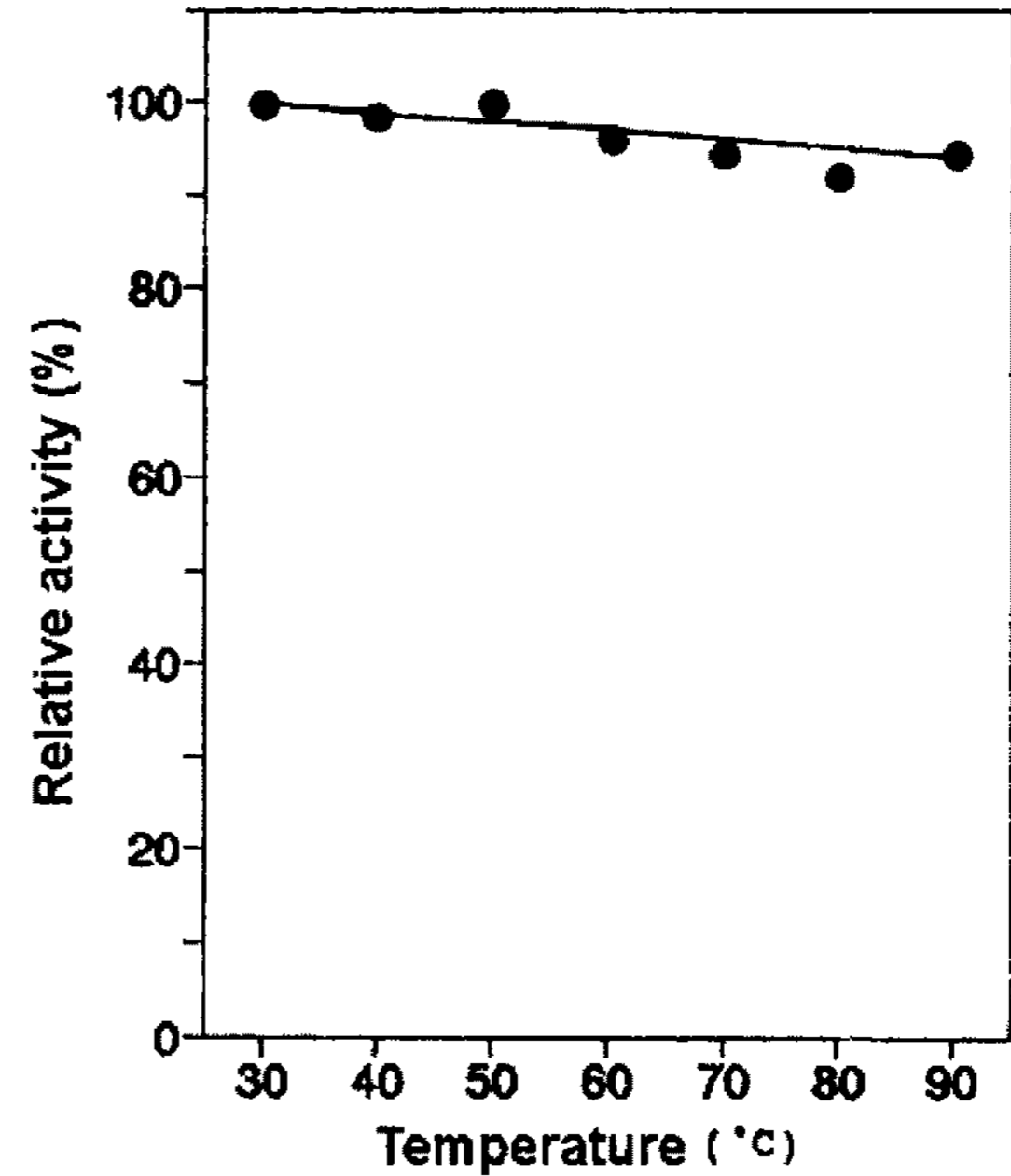


Fig. 6. Effect of temperature on the emulsifier stability.

After the bioemulsifier solution (0.02 ml, 48.5 mg/ml) was adjusted to different temperature ranging from 30 to 90°C and stood for 30 min, the remaining emulsification activity was measured.

진하게 하여 사용하였다. Table 5는 시판하는 각종 유화제와의 유화활성을 서로 비교한 결과이며 Fig. 7은 합성 bioemulsifier인 laurylfructose와 Table 5에서 유화활성이 우수한 3종의 기존 emulsifier를 대상으로 하여 유화안정도를 비교한 결과이다. 즉 본 물질의 유화기질에 대한 유화활성은 현재 유화활성이 대단히 우수하다고 알려져 있는 기존의 유화제와 비교해 볼 때 그 성능이 매우 양호한 것으로 확인되었다. 한편 본 물질의 유화안정성도 기존물질과 비교해 볼 때 상당히 우수한 것으로 나타나 기존제품을 대체할 수 있는 물질임이 입증되었으며 전보(24)에서도 보고한 바와 같이 표면장력 감소능도 동시에 우수하여 앞으로의 응용적인 측면에서도 기대할 수 있는 물질로 판단되었다.

Table 5. Comparison of emulsifying activity of synthetic emulsifier with other commercial emulsifiers

Emulsifier	Emulsifying activity (OD)
Synthetic emulsifier	1.72
Triton N-42	0.62
Triton X-45	2.18
Triton X-100	2.27
Tween 20	0.32
Tween 40	1.33
Tween 80	0.50
Span 40	1.25
Span 80	0.91
SDS	0.13
Gelatin	0.03

Table 4. Condition for enzymatic synthesis of laurylfructose (bioemulsifier) in pyridine

Reaction system	: anhydrous pyridine
Enzyme	: lipase AK, 10 mg/ml pyridine
Substrate	: fructose 0.1 M, vinyl laurate 1.0 M
Dehydration	: Molecular sieve, 1 g/ml pyridine
Temperature	: 40°C
Agitation	: 150 rpm
Reaction time	: 3 days

ate를 1.0 M되게 첨가하고 기질인 fructose 농도를 달리 하여 40°C에서 반응시킨후 반응산물을 GC로 측정하였다. Fig. 1은 fructose와 vinyl laurate간의 transesterification 반응에서의 enzyme kinetics을 나타낸 결과이다. 이때 K_m 값은 491.0 mM, V_{max} 값은 18.2 $\mu\text{M}/\text{mg}/\text{day}$ 이었다. 그러나 유기용매계에서의 효소반응은 일반적으로 초기속도가 너무 늦기 때문에 전형적인 Michaelis-Menten 식을 적용시키기는 어려우나 효소반응에 있어 하나의 지표가 될 것으로는 판단된다.

이상의 결과로서 시간과 경제적인 측면을 고려하여 laurylfructose의 합성의 최적조건을 Table 4와 같이 결정하였다.

위에서 설정한 반응조건에서 반응시간에 따른 생성물의 양을 경시적으로 측정하여 Fig. 2에 나타내었다. 이때 반응생성물의 양은 fructose의 전환율로 표시하였다. 반응 3일정도 후에 fructose의 80%정도가 laurylfructose로 전환되었으며 반응 7일 후에는 90%이상의 전환율을 나타내어 반응이 효율적으로 진행됨을 알수 있었다.

Bioemulsifier의 정제

효소반응에 의해 합성된 laurylfructose가 유화활성이

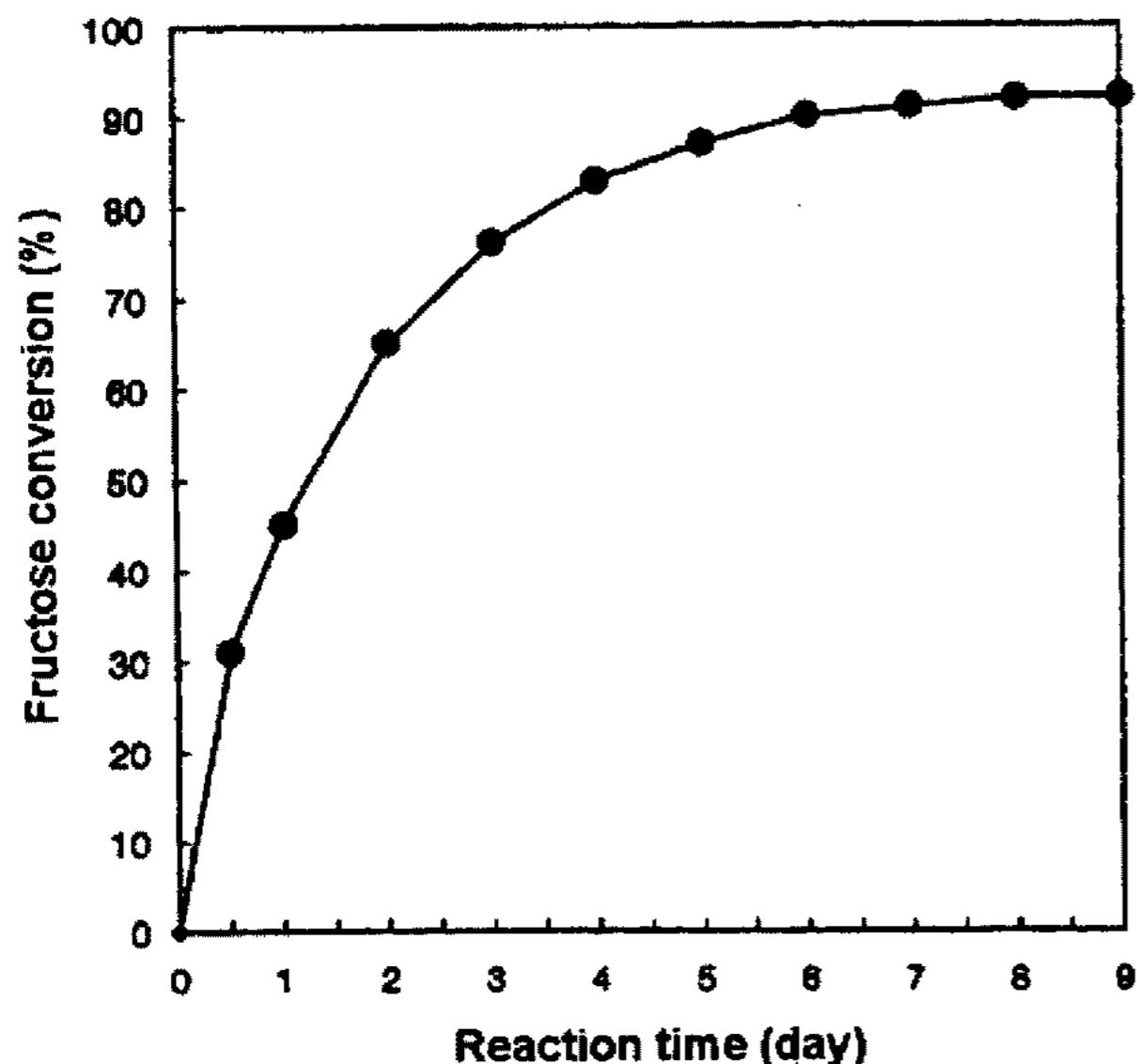


Fig. 2. The time course of bioemulsifier synthesis by lipase AK in anhydrous pyridine.

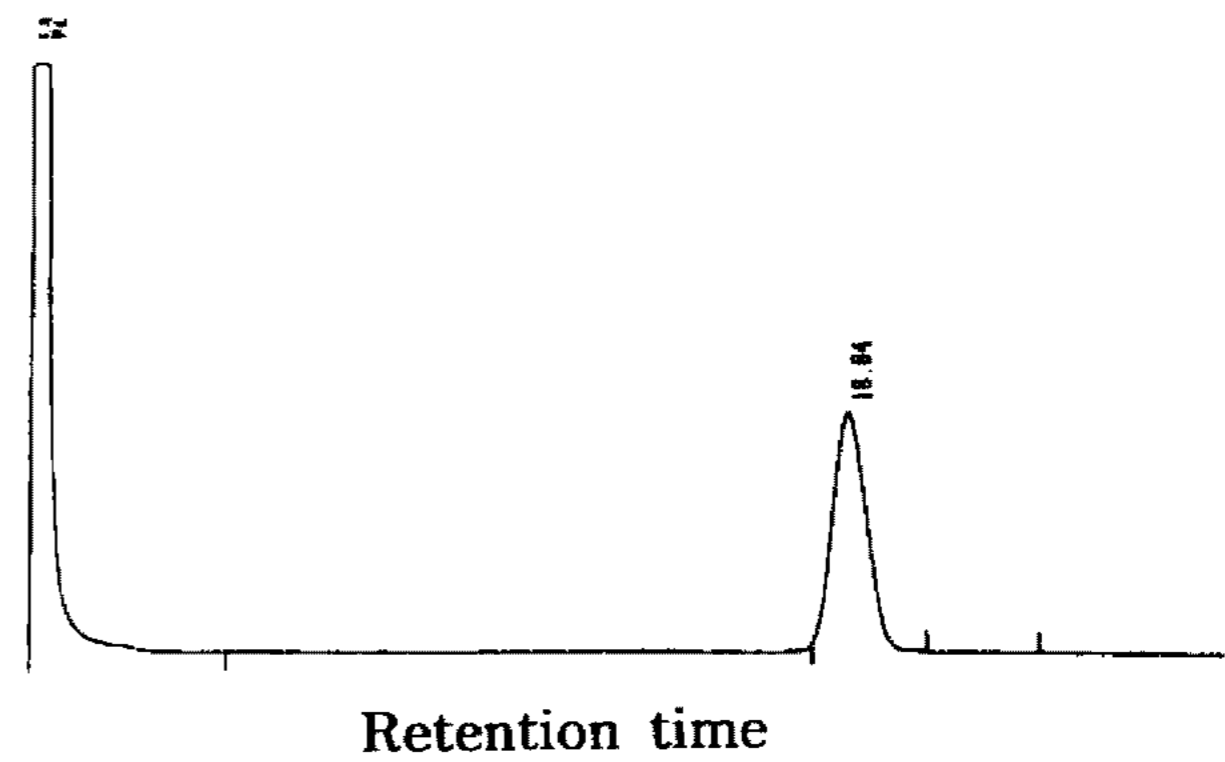


Fig. 3. The gas chromatogram of purified bioemulsifier.

높을 뿐만 아니라 동시에 표면장력의 감소능도 우수하다는 사실이 전보에서 밝혀졌기 때문에 이번에는 본제품의 유화능을 기존의 유화제와 비교하고 각종 oil의 유화시 유화안정도를 측정하여 그 우수성을 검증하기 위해 합성물질을 순수하게 정제하였다. 실험방법란에 기술한 방법에 따라 정제한 물질의 순도는 TLC와 GC분석에 의해 확인하였다. 즉 세 종류의 전개용매에서 TLC분석을 실시한 결과 모두 1개의 spot만이 검출되었으며(chloroform:methanol=8:1, Rf치 0.46; chloroform:methanol:acetic acid:H₂O=15:12:1:3, Rf치 0.86; butanol:ethanol:H₂O=2:1:1, Rf치 0.83), GC 분석을 통해서도 1개의 peak만이 확인되어 정제물질이 순수한 것으로 판단하였다(Fig. 3).

유화활성에 미치는 pH의 영향

유화제의 유화활성은 pH의 변화에 따라 영향을 받는다고 알려져 있기 때문에 본 정제물질의 유화활성을 각 pH에서 측정하여 그 결과를 Fig. 4에 나타내었다. 본 물

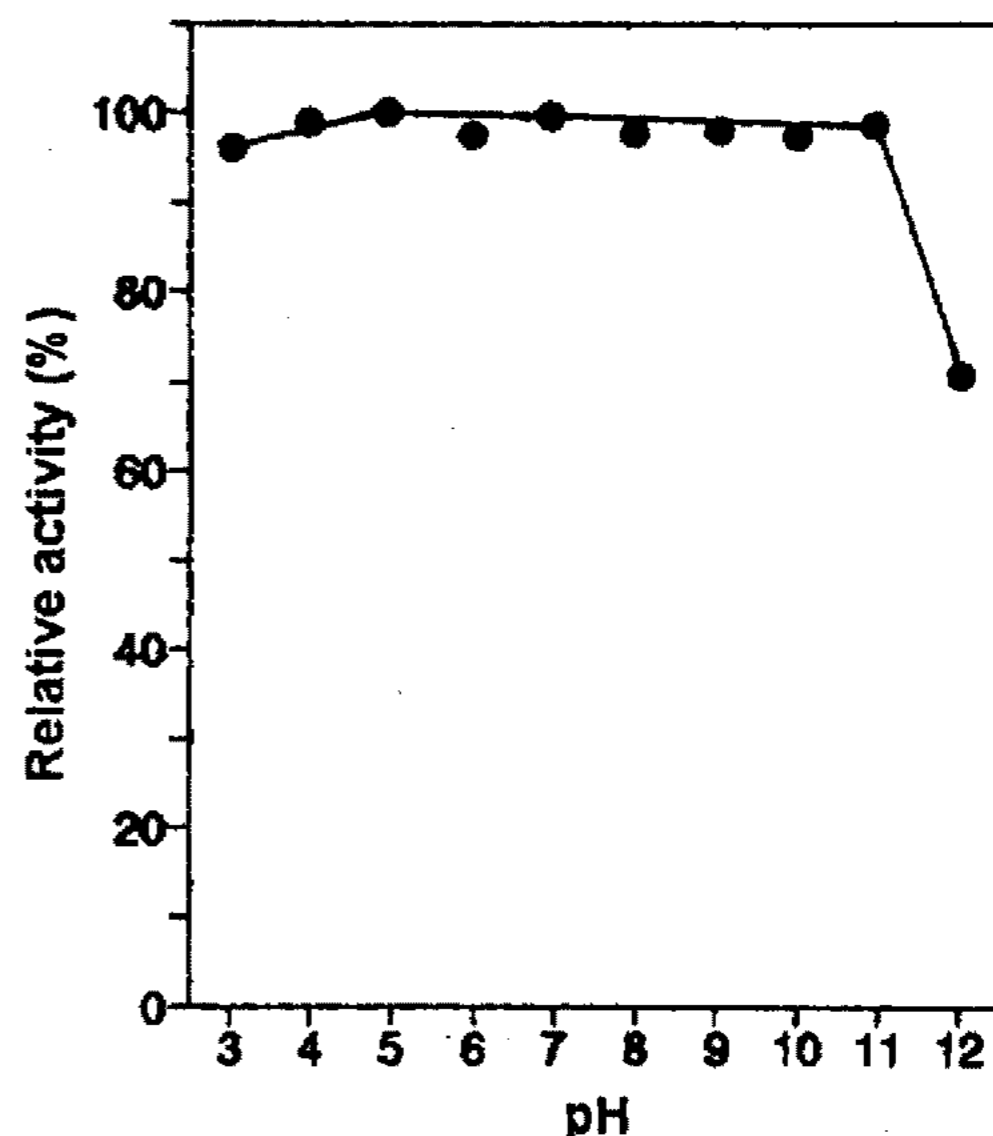


Fig. 4. Effect of pH on the emulsifying activity.

The emulsification activity was measured at pHs ranging from 3 to 12 at room temperature.

Table 2. The Ratio of fructose and vinyl laurate for bioemulsifier synthesis

Molar ratio of fructose:vinyl laurate	Fructose conversion (% after 3 days)
1: 1	21.5
1: 2	43.9
1: 4	57.0
1: 6	65.2
1: 8	73.8
1: 10	77.7
1: 12	83.6
1: 15	84.6

Vinyl laurate was incubated with fructose (0.1 M) in anhydrous pyridine (1 ml) containing lipase AK (10 mg) and molecular sieve (3 Å, 1 g/ml).

생성되었으며 다른 물질은 전혀 검출되지 않았다. 이 물질은 전보에 보고한 바와 같이 GC-MASS에 의해 laurylfructose 임이 확인되었으며 fructose에 lauric acid가 1분자 결합한 물질이었다. 특히 이 물질은 표면장력 감소능(29 mN/m, CMC, 10 mg/l)과 유화활성능을 동시에 갖고 있어 기존의 유화제를 대체할 수 있는 성질을 나타내었다. 또한 3일간의 반응에서 fructose의 60%이상이 sugar ester로 전환되었으며 7일 반응에서는 90%이상의 전환율을 보였다.

기질의 혼합비에 따른 수율 변화

Lipase에 의한 transesterification 반응시 반응속도에 영향을 주는 인자 중의 하나가 기질의 농도이기 때문에 두종류의 기질비에 따른 수율을 검토하기 위해 fructose와 vinyl laurate의 농도를 각각 다르게 첨가하여 fructose의 전환율을 측정하였다.

Table 2에 나타난 것과 같이 fructose에 대한 laurate의 비가 증가할수록 전환율이 커졌으며 기질비가 1:12일때의 전환율은 83.6%에 달하였다. 그러나 이 이상의 비율에서는 전환율에 큰 변화가 나타나지 않았으며, 본 실험에서는 1:10의 기질비를 선택하여 다음의 실험을 계속하였다.

효소농도에 따른 수율 변화

Laurylfructose 합성에 적당한 효소의 양을 결정하기 위해 lipase AK를 무수 pyridine반응액(1 ml의 pyridine, fructose:vinyl laurate=1:10, 1 g의 molecular sieve)에 2 mg에서 14 mg까지의 농도로 첨가하여, 40°C, 150 rpm에서 3일 동안 반응시킨 후 그 전환율을 GC로 확인하였다.

Transesterification 반응에서 첨가된 효소의 농도에 따른 수율은 Table 3에 나타난 결과와 같다. 첨가된 효소량이 증가할수록 반응속도도 증가하여 6 mg이상의 효소량을 첨가하였을 경우에는 50%이상의 높은 전환율을 얻었다. 이때 효소량이 많아지면 반응속도도 빨라지는 경

Table 3. The concentration of lipase AK for bioemulsifier synthesis

Concentration of lipase AK (mg/ml)	Fructose conversion (% after 3 days)
2	33.7
4	44.5
6	50.8
8	56.1
10	69.5
12	73.8
14	84.2
16	85.3

Sugar ester synthesis between fructose (0.1 M) and vinyl laurate (1.0 M) was carried out in anhydrous pyridine containing molecular sieve (3 Å, 1 g/ml) for 3 days with lipase AK of various concentrations.

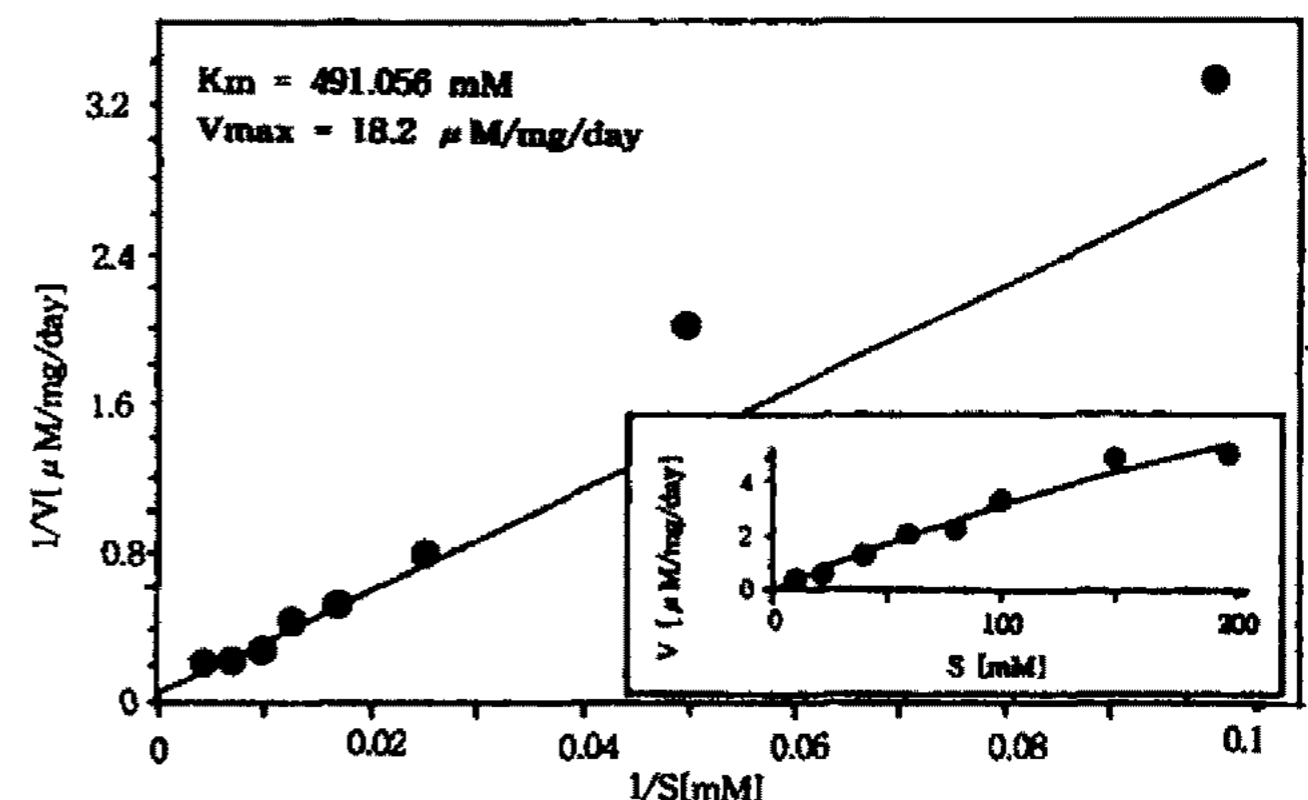
향이 있었으나 반응의 효율적인 측면에서 볼때 반응계에 10 mg 정도의 효소량을 첨가하는 것이 가장 유리할 것으로 판단되었다.

반응조건

상기의 조건에서 반응온도에 의한 물질의 생성속도를 조사한 결과 40°C정도의 온도에서 반응속도가 가장 빠른 것으로 나타났다. 한편 순수한 유기용매에서 효소반응을 행할 경우 소량의 수분첨가가 반응속도에 영향을 미칠 것으로 판단되었기 때문에 수분을 0-10%까지 반응계에 첨가하여 fructose의 전환율을 측정하였으나 수분의 첨가에 의해 오히려 반응수율이 감소함을 확인할 수 있었다 (data not shown). 따라서 본 반응계에서는 수분을 철저히 제거하는 조치가 반드시 필요할 것으로 판단된다.

반응속도

이상에서 검토한 반응조건을 적용하여 효소반응시의 기질농도와 반응속도와의 상관성을 조사하였다. 무수 pyridine 용액 3 ml에 lipase AK 30 mg과 vinyl laur-

**Fig. 1. Kinetics of bioemulsifier synthesis by lipase AK in anhydrous pyridine.**

acyl화합물을 합성하여 그 구조와 기능을 이미 밝힌 바 있다(24). 즉 본 화합물은 laurylfructose로서 pyridine의 반응계에서 lipase AK의 작용에 의해 fructose와 vinyl laurate로부터 합성된 물질이며 이 화합물은 계면활성능과 표면장력 감소능이 우수하여 기존의 화학합성제품에 필적할만한 성능을 가지고 있을 뿐만 아니라 non-toxic 하며 biodegradable 한 성질을 나타내는 물질이었다. 본 연구에서는 이 물질의 합성을 위한 반응최적조건을 확립하고 물질을 정제하여 그 성질을 규명하고 기존의 제품들과 비교한 결과에 대해 보고하고자 한다.

재료 및 방법

시료 및 장치

본 실험에서 사용한 효소는 Amano사 제품인 lipase AK (from *Pseudomonas* sp.)로써 desicator에서 수분을 완전히 제거한 후 효소반응에 사용하였다. Vinyl laurate와 fructose는 Fluka (Switzerland)와 Junsei (Japan)제품을, 무수 pyridine은 Aldrich (U.S.A.)제품을 사용하였다. 생성 산물의 정성확인을 위해서는 Merck사의 Kieselgel 60 F₂₅₄를, 정제를 위해서는 silica gel G60 (column chromatography용, particle size 0.063-0.200 mm)을 사용하였다. 그외 모든 실험에서 사용된 시약은 분석용 시약을 사용하였으며 유화 활성 측정용 기질인 hexadecane은 Sigma (U.S.A.)사에서 구입하였다.

반응계

효소의 반응계는 무수 pyridine 용액에 molecular sieve를 첨가하여 (1 g/ml) 용매속의 잔존수분을 제거하고 기질인 fructose와 vinyl laurate를 적당한 비율로 용해시킨 다음 lipase AK분말을 현탁시켜 45°C에서 반응시켰다. 반응시 현탁된 효소의 고른 분산을 위하여 150 rpm/min의 속도로 shaking하였으며 반응중 공기 속의 수분유입을 차단하기 위해서 반응계를 완전 밀봉시켰다.

반응산물의 분석

Fructose와 vinyl laurate의 transesterification반응에서 생성된 산물을 확인하기 위하여 반응중의 시료를 sampling하여 thin layer chromatography (TLC)를 행하였다. 전개용매는 chloroform:methanol:acetic acid:H₂O (15:12:1:3)를, 발색시약은 diphenylamine:aniline:phosphoric acid (5:5:1)를 사용하였다. 반응산물의 2차 확인 및 정량분석을 위해서는 시료를 TMS (trimethylsilylation) 유도체로 하여 gas chromatography 하였으며(16), 이때 사용된 GC의 분석조건은 Table 1과 같다. 반응산물의 양 혹은 fructose 전환율은 tetradecane을 internal standard로 하여 GC로 정량하였다.

Table 1. Condition of gas chromatography for quantitative analysis of product

Contents	Operation Condition
Column	5% OV-101 packed column
Temperature of injector	300°C
Temperature of detector	300°C
Carrier gas	N ₂
Flow rate	30 ml/min
Detector	FID
Injection volume	0.5 µl
Temperature condition	180°C-280°C, 10°C/min

반응산물의 정제

반응생성물은 그 성질을 조사하기 위하여 정제하였다. 일정시간 반응시킨 반응액 10 ml를 원심분리하여 현탁효소를 제거한 다음, 상등액을 evaporator로 감압 농축하여 반응계의 용매인 pyridine을 제거하고 농축된 시료를 동량의 증류수에 녹인 후 1배량의 hexane을 가하여 미반응의 vinyl laurate를 추출 제거하였다. 이 조작을 2-3회 반복한 다음 시료를 다시 1 ml/정도로 농축하여 silica gel G 60 column chromatography (chloroform:methanol=8:1)을 행하였다. 유화활성을 나타내는 분획은 순도 검정을 위해 TMS 유도체로 만든 다음 GC에 의해 정제도를 확인하였다.

유화활성 측정

유화활성 측정은 Rosenberg등의 방법(17-19)을 변형하여 사용하였다. 즉 0.01 M MgSO₄ · 7H₂O를 함유하고 있는 0.05 M Tris-HCl buffer (pH 8.0) 7.5 ml에 유화기질인 *n*-hexadecane과 2-methylnaphthalene의 1:1 (v/v) 혼합액 0.1 ml를 섞은 후, 배양상등액 0.2 ml를 넣고 1분간 vortexing하여 유화시킨 다음 10분간 정치시킨 뒤, 유화액의 밑부분에서 1 ml를 뽑아내어 540 nm에서 흡광도를 측정하여 탁도로서 유화활성을 나타내었다. Blank로는 유화기질을 넣지 않은 것(blank-1; 배양상등액 자체의 탁도를 제거하기 위한 것)과 배양상등액 대신 bioemulsifier 생산배지를 넣은 것(blank-2; 배지자체의 유화활성치를 제거하기 위한 것)을 사용하여 sample의 탁도에서 blank의 탁도를 뺀 값을 유화활성값으로 정하였다.

결과 및 고찰

반응산물의 확인

무수 pyridine용액 1 ml에 fructose 0.1 M, vinyl laurate 0.6 M, molecular sieve 1 g, lipase AK 10 mg을 첨가하여 40°C, 150 rpm에서 3일 동안 반응시킨 후, 반응액 중의 생성물을 확인 하였다. 반응산물을 GC, TLC 등으로 분석한 결과 한 종류의 sugar ester가 효율적으로

Lipase의 Transesterification반응에 의한 생물계면활성제의 합성

신영민 · 정숙현¹ · 이상옥 · 신화경 · 이희정 · 이태호*

부산대학교 미생물학과 · ¹동서대학교 식품공학과

Synthesis of Bioemulsifier by Transesterification Reaction of Lipase. Yeong Min Sin, Sook Hyun Chung¹, Sang Ok Lee, Hwa Kyong Shin and Tae Ho Lee*. Department of Microbiology, College of Natural Science, Pusan National University, Pusan 609-735, Korea, ¹Department of Food Engineering, Dongseo University, Pusan 616-716, Korea - *Pseudomonas* sp. lipase (lipase AK) catalyzed transesterification reaction between fructose and vinyl laurate in anhydrous pyridine. The product of this process was identified as monoester of fructose and vinyl laurate. The synthetic product has been found to be an excellent emulsifier. The synthetic bioemulsifier showed a good emulsification activity and stability in comparison with other commercial emulsifiers, and good emulsification activity on various emulsifying substrates.

최근 들어 효소가 특정 물질의 합성에 있어 선택적 촉매제로서 그 중요성이 재인식되고 있고(1, 2), 효소반응이 수용액 뿐만 아니라 비수계(非水界)에서도 가능하다는 사실이 입증됨에 따라 이들 효소의 특수한 기능을 이용한 신물질의 합성이 활성화되기 시작하였다. 초기에는 주로 esterase, lipase, oxidase 및 hydrogenase 등이 사용되어 이들의 기질 선택성(substrate selectivity), enantioselectivity 또는 regioselectivity(3-5) 등의 특수성질을 고가의 chiral 전구체, 항생물질 중간체, 탄수화물 base의 의약품 및 고분자 화합물 등의 합성에 이용되어 왔으며 최근에는 이들 외에도 여러 종류의 효소류를 이들 분야에 이용하여 고부가가치의 물질생산에 적용하고 있다. 특히 이들 효소가 종래의 유기합성법으로는 분리가 곤란했던 이성체를 쉽고 간단하게 생산할 수 있다고 하는 사실이 밝혀지면서 효소를 특정물질의 선택적 합성에 이용하려는 시도가 행해지고 있으며(6, 7), 80년대에 접어들어 유기용매계에서의 효소의 촉매기능이 수계와는 전혀 다르게 나타난다는 사실이 알려지면서 이들에 의한 신규물질의 합성이 크게 주목을 받기 시작하고 있다(8).

현재 유기용매계에서의 반응으로는 lipase, esterase, protease 등에 의한 가수분해반응의 역반응 및 에스테르 교환반응(9), 당 가수분해 효소 glycosidase, galactosidase, amylase 등에 의한 기능성 당의 합성, transglycosylation 반응(10)의 다수가 알려져 있으며, Holla(11)는 *Candida cylindracea* lipase가 vinyl ester와 glycol의 선택적 acylation을 촉매한다는 사실을 확인하였다. 또

한, amino alcohol과 같은 heterobifunctional 화합물이 효소적 transesterification반응시의 기질로서 사용될 때 그 modification의 위치 (OH vs NH₂)는 효소와 acyl기의 제공기질인 ester에 의해 조절될 수 있다는 사실도 밝혀졌다(12). 당의 경우는 이들이 갖고 있는 functional group, 즉 많은 hydroxyl기의 존재로 인해 transglycosylation, alkylation, reverse hydrolysis 반응등의 기질로 자주 사용되고 있으며 Therisod 등(4)은 porcine pancreatic lipase가 무수 pyridine에서 glucose의 primary hydroxyl기에 acylation되는 것을 확인했고, Gabin과 Thomas 등(13)과 Valerie와 Willemot 등(14)은 β -glucosidase의 transglycosylation, reverse hydrolysis 반응에 의해 cellobiose로부터 각종 alkylation반응이 일어난다는 것을 확인하고 있다. 한편 Trincone 등(15)과 Vulfson 등(16)은 β -glucosidase를 이용하여 biological detergent의 유망물질로서 다양한 alkyl- β -D-glucoside의 합성에 성공하고 있으며, 수계에서는 amyloglucosidase에 의해 sucrose를 기질로 하여 비소화성 fructooligo 당의 합성에도 성공하고 있다.

당을 기질로 하여 합성되는 배당체 화합물은 거기에 결합된 aglycon의 종류에 따라 다양한 성질을 가지게 되는데, 이들은 주로 계면활성제, 기능성 식품, 변성제(denaturant), 유연제(plasticizer), 식품 첨가물, 항생제, 생리활성물질로서의 성질을 가지고 있어 그 특성에 있어 광범위한 물성을 나타내는 것으로 알려져 있다(17-23).

본 연구에서는 수계 혹은 비수계용매에서 효소가 가지고 있는 종래의 반응과는 그 특성이 다른 새로운 반응을 유도하여 보다 부가가치가 높은 신물질의 합성에 초점을 맞추어 계획되었으며, 이미 그 연구의 일환으로 유기용매계의 반응에서 lipase에 의해 계면활성능이 우수한 당

*Corresponding author

Tel. 82-51-510-2267, Fax. 82-51-583-0134

E-mail: leeth@hyowon.cc.pusan.ac.kr

Key words: Biosurfactant, Bioemulsifier, Transesterification by lipase, Enzyme reaction in organic solvent.