

효소를 촉매로 활용한 고분자 종합

박승영 · 김용환 · 송봉근

1. 서론

바이오촉매란 체내의 갖가지 화학반응이 일어날 때 중개역할을 하는 물질을 의미하며, 효소(enzyme)가 가장 대표적인 바이오촉매이다. 이외에 특정 효소가 포함된 미생물, 동물세포, 식물세포 등도 촉매로 이용되고 있다. 그리고 바이오촉매로서 효소 외에 세포 자체를 사용하는 바이오촉매는 일반적으로 필요로 하는 회사들이 직접 세포 배양을 통해 얻고 있는 실정이며, 세포 자체를 이용할 경우 목적산물 외에 부가적인 산물이 생성될 가능성이 높은 단점이 있다. 바이오촉매는 생체촉매, 생촉매, 생물촉매로도 불리어지고 있다.

최근까지 바이오촉매 반응은 상온/상압의 온화한 조건과 수용액 상태에서 일어나는 자연반응을 이용하는 것이 거의 대부분이었으나, 1980년대에 들어서 기존의 바이오촉매 반응의 개념을 벗어난 인위적이고 비자연적인 상태에서의 바이오촉매 반응연구가 활발히 이루어지게 되었다.

대표적 바이오촉매인 효소는 초정밀성, 특이성, 선택

성 및 고효율성의 특성을 가지고 있어서 다양한 산업분야에 이용되고 있고, 점차 그 이용분야가 확대되고 있다. 이는 산화환원 반응, 전이 반응, 가수분해 반응, 이탈 및 부가 반응, 이성화반응, 합성반응 등을 촉매하는 일반적인 기능은 물론이고, 고온, 고압, 유기용매 등의 특수한 반응조건에서도 촉매역할을 수행할 수 있는 특성을 가지고 있다.

이에 따라 극한환경을 요구하는 화학분야에서의 바이오촉매 응용이 시작되었다고 할 수 있으며, 현재 아미노산공업, 스테로이드전환, 항생물질, 펩타이드 합성,



김용환

1991 서울대학교 화학공학과(학사)
1993 서울대학교 화학공학과(석사)
1996 서울대학교 화학공학과
생물화학공학(박사)
1996 삼성종합기술원 신소재 연구소
2000 삼성엔지니어링 기술연구소
2000~ 한국화학연구원 응용화학부
현재 책임연구원



박승영

1989 충북대학교 임학과(학사)
1991 충북대학교 임학과(석사)
1999 일본 동경대학교 생물재료과학
(박사)
2001~ 한국화학연구원 응용화학부
현재 선임연구원



송봉근

1983 인하대학교 고분자공학과(학사)
1985 인하대학교 고분자공학과(석사)
2002 인하대학교 고분자공학과
고분자공학(박사)
1985~ 한국화학연구원 응용화학부
현재 펄프제지연구센터장

Polymer Synthesis by Enzyme Catalysis

한국화학연구원 응용화학부 (Seung Young Park, Yong Hwan Kim, and Bong Keun Song, Applied & Engineering Chemistry Division, Korea Research Institute of Chemical Technology, 100 Jang-Dong, Yuseong-Gu, Daejeon 305-343, Korea) e-mail: bksong@kriect.re.kr

에스테르 전환 및 이의 합성, 유기화학에서의 이용 등 다양한 분야에서 바이오촉매가 사용되고 있다. 아울러 **표 1**에 나타난 바와 같이 유럽의 화학자들은 현재 식품 및 제약 산업에서 비교적 활발한 활용을 보이고 있는 효소촉매 기술이 가까운 장래 또는 장기적인 관점에서 정밀화학 및 고분자 산업에서도 매우 활발하게 적용될 것으로 전망하고 있다.¹

생체 내에서 중요한 생체고분자인 핵산(DNA, RNA), 단백질, 다당류 등은 모두 효소의 촉매작용에 의해 만들어진다. 자연계에서는 모든 생물이 자신의 생존을 위해서 효소를 생산하고 있으나, 유기합성분야에서의 효소는 입체 혹은 위치선택적 반응성 촉매로 이용하려는 시도가 활발히 진행되어 왔다. 유기합성반응에 있어서 효소촉매 작용은 화학촉매와 비교해 높은 촉매활성, 온화한 반응조건, 높은 입체·위치 및 관능기 선택성, 부반응의 제어라고 하는 많은 장점을 가지고 있다. 이와 같은 특징 때문에 효소를 이용하는 물질 생산에 대한 관심이 높아져 왔다.

최근 들어 효소를 분자촉매의 하나로써 적극적으로 중

합촉매로 활용하여 고분자합성분야에 적용한 연구가 교토대학의 Shiro Kobayashi 그룹과 미국 Polytechnic Univ.의 Richard A. Gross 그룹에서 체계적으로 진행되어 왔다.²⁻⁵ 여기에서 효소촉매중합(Enzymatic Polymerization)은 효소를 촉매로 사용한 「비 생합성 경로에 의한 *in vitro* 중합반응」을 말한다. 근래에는 기능성 고분자재료 개발에 있어서 정밀 구조제어의 필요성이 높아지고 있고, 이들에 대응할 수 있는 고분자 합성의 새로운 수법으로서 효소를 활용한 고분자의 중합이 주목되고 있다.

대표적인 바이오촉매인 효소는 현재까지 약 3,000종이 알려져 있으며, 그 숫자는 해마다 증가하는 경향을 보이고 있다. 이 가운데 산업적으로 응용이 가능한 바이오촉매는 약 150여종이며, 현재 상업적으로 생산되고 있는 효소는 60여종에 불과하다. 이들 대부분의 효소는 **표 2**에 나타난 바와 같이 6종류로 분류되고 있고, 지금까지 3종류의 효소군에 의한 중합촉매작용이 보고되고 있다. **표 2**에 각각의 효소군에 의해 얻어진 고분자의 예와 고분자의 개질 및 가수분해에 관

표 1. 화학산업에서의 바이오촉매 현황과 미래예측

Industry sector	Impact (estimate)		
	Today	Near future	Distant future
Organics			
Food and feed additives	+++	+++	++
Fine chemicals	+	++	+++
Drugs (antibiotics, intermediates)	++	++	++
Plastic materials and synthetics	+	++	++
Soap, cleaners, personal care products (lipases, proteases)	+	++	++
Inorganics			
Miscellaneous chemical products (adhesives, pulp, textile and oil processing, waste treatment)	-	+	+
	+	+	++
Agricultural chemicals (herbicides, intermediates)	+	+	++

+++ : very high, ++ : high, + : moderate, - : low

표 2. 효소의 분류 및 고분자 산업에 대한 적용성

Enzymes	Polymer Syntheses	Polymer Modification	Polymer Hydrolysis	Typical Polymers
Oxidoreductases (Peroxidase, Laccase etc)	○	○	○	Polyphenols, Polyanilines, Vinyl Polymers
Transferases	○	○		Polyesters, Polysaccharides
Hydrolases (Lipase, Protease, Cellulase etc)	○	○	○	Polyesters, Polycarbonates, Poly(amino acid)s, Polysaccharides
Lyases			○	
Isomerases		○		
Ligases				
Whole-cell	○	○	○	

한 정보도 함께 나타내었다.^{2,4} 많은 경우에 종래의 합성법으로는 합성이 곤란한 폴리머가 *in vitro*에서의 효소촉매 작용에 의해 합성되고 있다. 또한, 효소촉매 중합은 온화한 조건 하에서의 높은 촉매활성으로 인한 에너지 절약형 특성, 독성이 높은 금속촉매의 비사용에 의한 효소 반응계의 무독성, 많은 경우 천연자원을 출발물질로 활용하는 경우가 많아 생성된 고분자가 생분해성 등 지구환경에 친화적인 고분자 소재의 특성뿐만 아니라 효소를 활용한 중합은 자연계의 물질순환계에서 얻어지기 때문에 고분자 중합에 있어서 그린촉매화학으로서도 기대가 된다.

따라서 본고에서는 지금까지 가장 폭넓게 연구되어 온 산화환원 효소를 활용한 페놀계 고분자와 리파제(lipase)를 활용한 에스테르계 고분자의 합성을 중심으로 연구 동향을 알아보기로 한다.

2. 효소에 의한 페놀계 고분자의 중합

1950년대 까지 페놀류 산화에 관한 연구결과는 단 순히 dimer나 oligomer 정도의 페놀중합체를 얻는데 그쳤다. 한 예로 2,6-dimethylphenol (2,6-Me₂P)의 경우 benzoyl peroxide 또는 ferricyanide를 산화제로 사용하여 주로 **그림 1**에서 보이는 3,3',5,5'-tetramethyldiphenylquinone (DPQ)을 합성할 수 있었다. 1959년에 Hay는 CuCl/pyridine을 촉매로 이용하여 2,6-Me₂P의 고분자 중합체인 poly(2,6-dimethyl-1,4-phenylene oxide) (P-2,6-Me₂P)를 합성하는데 성공하였다. 이렇게 합성된 P-2,6-Me₂P는 폴리스티렌과 완전히 혼화될 수 있었으며 현재 P-

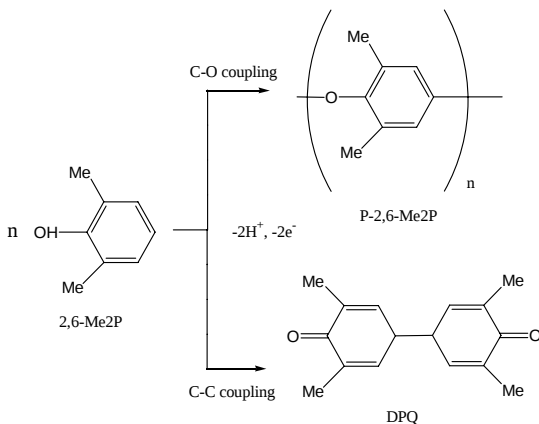


그림 1. 산화반응에 의한 2,6-Me₂P의 중합.

2,6-Me₂P와 폴리스티렌 블렌드 고분자는 엔지니어링 플라스틱의 한 종류로 널리 사용되고 있다.⁶

페놀류의 산화에 의하여 고분자를 형성하는 것은 자연계에서도 발생하는 현상으로 peroxidase, oxidase, oxygenase와 같은 효소에 의하여 lignin, melanin과 같은 페놀계 고분자가 형성된다. 1980년대 중반부터 horseradish peroxidase (HRP)를 이용하여 다양한 종류의 페놀을 산화조건에서 반응시켜 페놀고분자를 합성하는 연구가 활발하게 진행되어 왔다.⁷ 이러한 산화효소들은 페놀로부터 자유라디칼을 생성하는데 효과적이었으나 라디칼 상호간의 커플링을 제어할 수는 없었다.

그러나 페놀류의 효소촉매 중합은 독성이 높은 포르말린을 사용한 기존 페놀수지(노볼락수지, 레졸수지)에 대신할 수 있는 환경친화적인 페놀수지 합성법으로서 주목되고 있다. 효소를 활용한 페놀계 고분자의 중합에는 촉매로서 HRP를 중심으로 산화환원효소가 이용되고 있다. Peroxidase는 과산화수소를 수소 수용체로서 다양한 물질의 산화반응을 촉매 한다. 이 효소는 식물계에 폭넓게 존재하고 있으며, 생체 내에서 살아있는 활성산소종에 대한 방어기능에도 관여한다고 추론하고 있다.

이러한 peroxidase에 의한 중합반응 기작은 이미 오래 전에 알려졌으며, HRP와 soybean peroxidase (SBP)와 같은 peroxidase는 반응 활성부위에 iron-porphyrin을 가지고 있는 heme-protein의 일종으로 과산화수소를 이용하여 기질을 산화시키고 두 개의 물 분자를 방출한다. **그림 2**에서 볼 수 있듯이 peroxidase는 산화제로서 과산화수소를 만나면 두 개의 활성형 산소 콤플렉스가 기질로부터 수소원자를 탈리시켜 결과적으로 기질을 산화시킨다. 페놀의 경우에는 이러한 경우 phenoxy 라디칼이 생성되며, 이들 라디칼의 커플링에 의해 고분자중합이 진행된다.^{8,9}

페놀류 중에서 치환기가 없는 단순 페놀의 경우 산화커플링(oxidative coupling)에 있어서 반응점이 4개가 존재하기 때문에 구조제어가 어려워 가용성 폴리머를 얻기가 어려웠다.⁷ 산화중합의 대표적인 촉매인 구리-아민 촉매를 이용하는 경우에는 불용성의 폴리머가 얻어지지 않는다. 한편, HRP 촉매에 의한 중합에서는 메탄올과 완충액의 혼합용매를 반응매질로 사용함으로써 가용성 폴리페놀이 높은 수율로 합성되었다.¹⁰ 생성된 폴리머는 페닐렌 단위와 옥시페닐렌 단위의 혼합체이다(**그림 3**).

Peroxidase를 촉매로 활용한 페놀류의 산화중합은

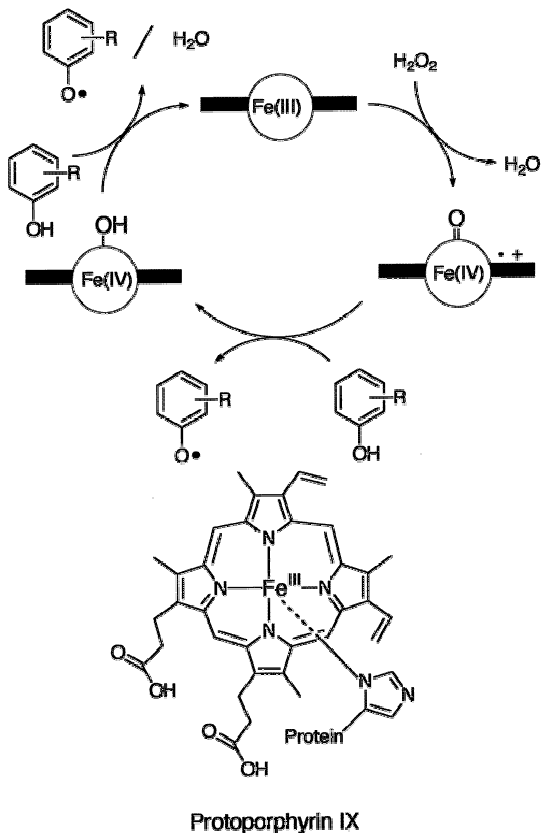


그림 2. Peroxidase에 의한 페놀류의 산화기작 및 활성부위의 Fe 화학물 구조.

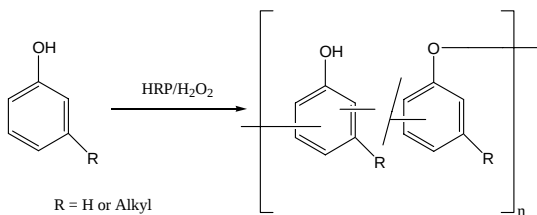


그림 3. Peroxidase를 촉매로 활용한 페놀류의 산화중합.

대부분 유기용매 수용액을 반응매질로 사용하고 있다. 중합 전에는 페놀류 단량체와 효소가 반응매질에 용해되어 균일하지만 과산화수소(산화제)를 가함에 따라 중합이 진행되어 반응계에서의 용해성이 감소되어 고분자가 석출되기 때문에 중합 후에 여과나 원심분리 등에 의해 간단하게 생성된 고분자를 회수할 수 있다. 반응은 실온에서 진행되기 때문에 효소를 촉매로 활용한 페놀류의 중합은 온화한 조건에서의 간단한 고분자 합성법이다.

메타 위치에 알킬기로 치환된 페놀류로부터도 가용

성의 폴리머가 합성됨을 확인하였다(그림 3).¹¹ 메탄올 수용액(pH 7, phosphate buffer)중에서의 중합에 의해 얻어진 poly(m-cresol)은 극성용매에 잘 용해되며, 유리전이온도는 200 °C 이상이었으며, 이 고분자는 토양 중에서 생분해특성을 나타내었다.¹² 메타 위치에 치환된 페놀류의 중합거동은 효소의 종류에 크게 영향을 받고 있음을 발표하였으며, 치환기가 알킬기인 경우 HRP 촉매에서는 알킬기의 크기가 작을수록 그리고 soybean peroxidase(SBP)촉매에서는 치환기인 알킬기의 크기가 클수록 수율이 높아졌다. 또한 비스페놀-A류도 SBP 촉매 하에서 분자량 수천의 가용성 고분자가 얻어짐을 발표하였고, 이 고분자는 150~200 °C 범위에서 열경화 특성이 보이고 있음을 발견하였다.¹³

Peroxidase 촉매에 의한 페놀류의 중합은 자유라디칼 메카니즘으로 진행되기 때문에 구조제어는 용이하지 않으며, 페놀의 중합에서는 메탄올과 포스페이트 완충용액과의 용매조성(혼합비)을 변화시킴으로써 일정범위(페닐렌 단위 40~70%)에서 구조제어가 가능함을 증명하였다.¹⁰ 또한, 파라 위치에 치환된 페놀류의 중합을 여러 가지 유기용매/완충용액에서 중합반응 시 유기용매의 소수성 파라미터(log *P*) 및 페놀계 단량체의 치환기에 대한 소수성치환기정수(π)에 폴리머 구조와의 양호한 1차 상관관계가 보여지고 있다.¹⁴ 이들 파라미터를 변화시킴으로써 페닐렌/옥시페닐렌 단위 비가 94/6~4/96의 범위에서 제어가 가능하였다. 아울러 폴리에틸렌글리콜(PEG)을 template로 첨가한 경우에는 페놀의 산화중합이 물속에서 진행되었으며 페닐렌 단위를 90% 이상 함유하는 페놀고분자가 합성되었다.¹⁵ 그리고 분자량의 제어수단으로 중합성이 낮은 2개의 치환기를 갖는 페놀류의 단량체와 공중합을 함으로서 달성되었다.¹⁶

최근, 산화환원 효소의 일종인 laccase를 촉매로 사용한 페놀류의 중합도 보고 되었다.¹⁷ Peroxidase를 촉매로 사용하는 중합에서는 산화제로서 과산화수소가 필요하지만 laccase를 사용할 경우에는 공기중의 산소가 산화제로 작용하기 때문에 공기의 유입 이외의 산화제를 필요로 하지 않는 장점이 있다. 중합거동은 peroxidase를 촉매로 사용하는 경우와 매우 유사하며 용매조성에 의한 구조의 정밀제어도 가능하다고 보고 되었다.

효소를 촉매로 사용한 폴리페놀 합성의 특징을 요약하면 다음과 같다: i)독성이 강한 포르말린을 사용하지 않는다, ii)촉매활성이 매우 높다(turnover 10만

이상), iii) 폭넓은 구조의 페놀류가 중합되며 기존의 방법으로는 합성이 곤란한 신규 구조의 페놀계 고분자가 얻어진다, iv) 반응조건에 의해 분자량, 용해성을 제어할 수 있다, v) 온화한 조건(상온, 상압)에서 중합이 진행된다, vi) 조작이 간편하고 분리·정제가 비교적 용이하다.¹⁸ 이와 같은 다양한 장점을 살려 효소를 활용한 다양한 페놀계 고분자의 합성에 관한 보고가 발표되고 있다.

2.1 산화효소에 의한 위치선택적 산화중합

산화효소들은 페놀로부터 자유라디칼을 생성하는데 효과적이었으나 라디칼 상호간의 커플링을 제어할 수는 없었다. 그러나 효소를 이용할 경우 **그림 4(a)**와 같이 다른 금속 촉매로는 얻을 수 없는 선택적으로 산화되는 페놀고분자를 합성할 수 있다. 즉 일반 산화 촉매를 사용할 경우 대부분의 라디칼이 **그림 4(a)**의 경우 아크릴기에 생성되어 산화적인 커플링이 일어나나 HRP/과산화수소 시스템의 경우 phenoxy 라디칼이 발생하여 C-C 결합 또는 C-O 결합이 형성됨을 알 수 있다. 또한 미백화장품의 핵심원료로 사용되고 있는 알부틴의 경우 오직 ortho 위치로만 라디칼 커플링이 발생하여 결과적으로 위치선택적으로 고분자가 합성되는 것을 **그림 4(b)**에서 볼 수 있다. 또한

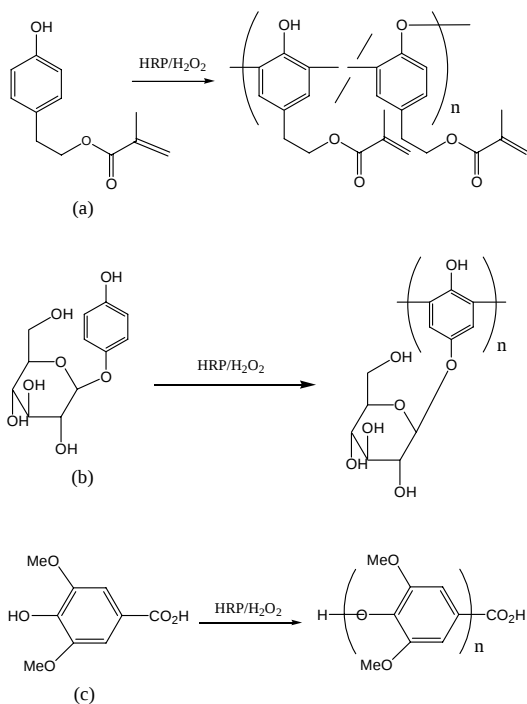


그림 4. 산화환원 효소에 의한 선택적 중합반응 예.

그림 4(c)에서 볼 수 있듯이 syringic acid의 경우에는 산화고분자가 이산화탄소가 배출되면서 선형 고분자가 합성되는데 이러한 반응은 일반적인 금속촉매로는 이러한 반응을 수행할 수 없는 것으로 알려져 있다.¹⁹

또한 **그림 5**에서 볼 수 있듯이 tyrosinase를 이용할 경우 4-phenoxyphenol (PPL)로부터 poly(1,4-phenylene oxide) (PPO)를 합성할 수 있는 있는데 이는 ortho 위치가 비어있는 페놀의 라디칼 커플링을 일정하게 조절할 수 있기 때문에 가능하다.

이러한 라디칼 발생에 의한 페놀중합 외에 페놀고분자를 합성하는 다른 방법은 할로젠이 치환된 방향족 화합물을 metal phenolate를 이용하여 nucleophilic substitution 반응을 이용하는 것이다. 그러나 이러한 방법은 환경적으로 문제가 되는 할로젠화 단량체를 사용해야 하며 동시에 고온의 반응조건과 반응과 함께 형성된 염을 제거해야 하는 문제가 있다.

2.2 산화효소에 의한 기능기를 가지는 페놀류의 중합반응

기능기를 사이드기에 가지는 페놀류 경우 peroxidase의 반응에 있어서 페놀그룹과 기능기그룹 사이에 화학적인 반응선택성이 존재하게 되어 특정한 위치의 반응성만이 증가하는 결과를 가지게 된다. ethynyl기를 가지는 페놀의 경우 HRP/과산화수소를 이용하여 중합한 경우 다른 금속촉매반응(copper/diamine complex)에 비교하여 diacetylene 기가 그대로 유지된 상태로 고분자를 합성할 수 있다(**그림 6**).

W. Liu 등은 4-phenylazophenol을 HRP를 이용하여 평균 분자량 3,000 정도를 가지는 고분자를

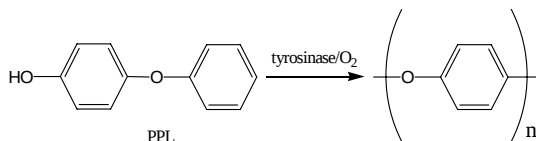


그림 5. Tyrosinase에 의한 PPL의 위치선택적 중합반응.

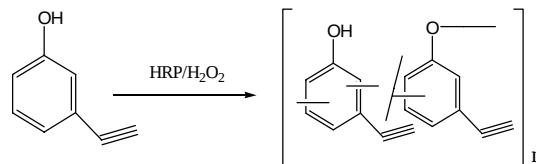


그림 6. HRP에 의한 3-ethynyl phenol 중합 반응.

합성하였다.²⁰ **그림 7**에서 볼수 있듯이 이렇게 생성된 고분자는 주로 ortho 위치에 C-C 커플링이 형성되는 것으로 알려져 있다. 주목할 것은 이러한 고분자가 형광 및 여러 가지 독특한 광학특성을 나타낸다는 것이다.

그림 8은 4-sulfonated phenol을 HRP를 이용하여 고분자 합성한 예를 보여주는데 주된 결합양식은 1,2-phenylene oxide 기를 형성한다. 이렇게 위치 특이적으로 결합이 형성되는 이유는 아마도 para 위치에 존재하는 azo기 또는 sulfonate 기가 강한 영향을 주었을 것으로 추정된다. 이러한 사례를 보았을 때 효소의 산화중합에 있어서 기능기의 종류, 위치가 생성되는 고분자의 위치선택적 중합에 크게 영향을 주는 것으로 판단되고 있다.

Meta 위치가 알킬기 또는 불포화 이중결합기를 가지는 천연유래 phenol류 중에 CNSL(Cashew Nut Shell Liquid)라고 불리는 물질은 카슈넛을 생산한 후 발생하는 일종의 천연유래 부산물로 브라질, 인도 등지에서 연간 100만톤 정도가 발생하는 것으로 추정되고 있다. 이러한 물질은 **그림 9**에서 볼 수 있듯

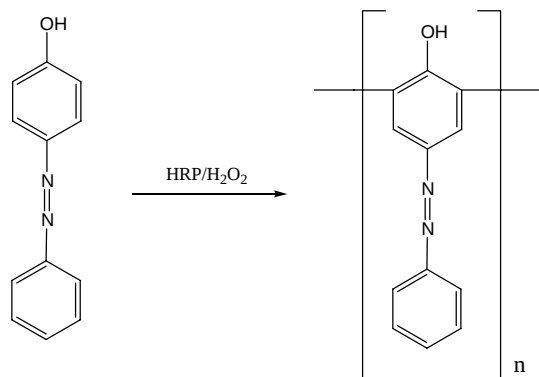


그림 7. HRP에 의한 4-phenylazophenol의 위치선택적 중합.

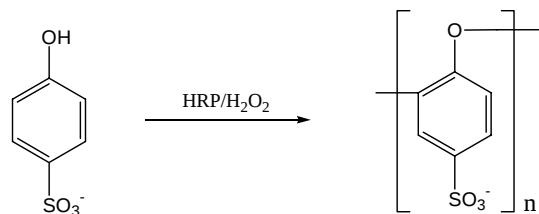


그림 8. HRP에 의한 4-sulfonated phenol의 위치선택적 중합.

이 3가지 유도체로 구성되어 있으며 이중 2만톤 정도만이 공업적인 용도로 이용되고 있는 것으로 알려져 있다.

이러한 CNSL은 기존에는 포름알데히드 또는 핵사메틸렌테트라아민을 이용하여 단독 또는 다른 페놀과의 공중합체를 형성시켜 여러 가지 공업적 용도로 이용하여 왔다. CNSL 구성 물질 중 카다놀(cardanol)만을 선택적으로 분리한 후 이를 효소를 이용하여 중합하는 연구가 진행되었다.^{20,21} **그림 10**은 peroxidase를 이용하여 cardanol의 위치선택적 고분자 중합과정을 보여주고 있다. 앞의 **그림 6**과 같이 peroxidase는 meta 위치에 존재하는 불포화이중결합을 손상시키지 않는 상태로 고분자를 형성할 수 있다. 이러한 고분자 반응은 효소가 존재하는 유기용매 환경에 크게 영향을 받는다. **표 3**은 용매조건에 따른 cardanol 중합 결과를 보여주고 있다. 일반적으로 유기용매에서의 효소 반응은 일반적으로 log *P* 값이 큰 조건에서 수행하는 것이 좋은 것으로 나타나고 있으나, cardanol의 고분자 중합 반응에 있어서는 2-propanol과 같이 상당히 log *P*

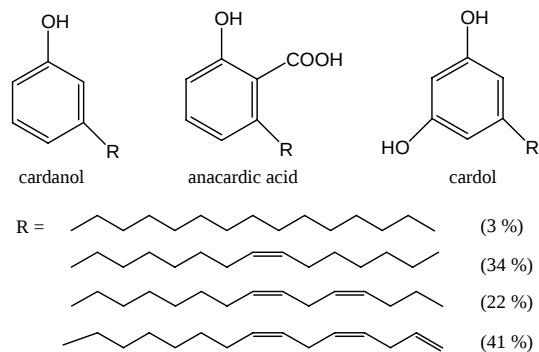


그림 9. CNSL 구성 phenol 유도체 종류.

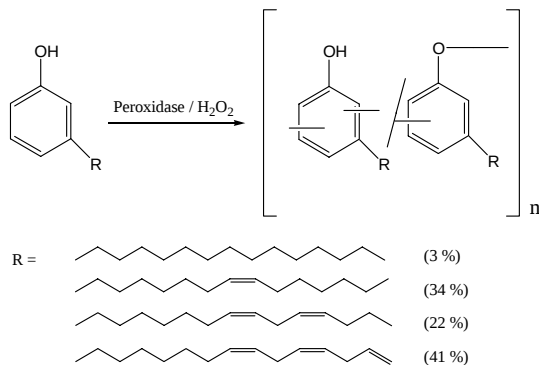


그림 10. Peroxidase에 의한 cardanol의 중합.

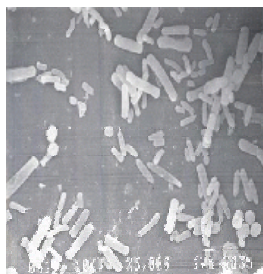
값이 작은 극성 용매에서 중합이 수행될 수 있는 것으로 실험결과가 나타났다.

SBP를 이용하여 중합된 폴리카다놀(polycardanol)을 GPC를 이용하여 분자량을 측정한 결과 평균분자량은 8,000에서 12,000을 가지는 것으로 나타났으며, 평균수율은 70% 이상으로 측정되었다.

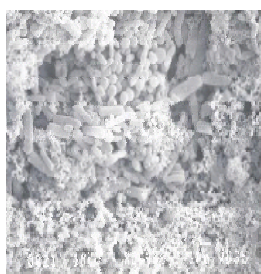
그림 11에는 폴리카다놀을 코발트계 촉매를 사용하여 경화도막을 형성한 후 미생물의 내오염성(Anti-fouling)에 관한 실험결과를 slide glass 표면과 비교하여 나타내고 있다. 적용된 미생물은 *Pseudomonas fluorescens*로 생물막 형성을 잘하는 균으로 알려져 있다. 이러한 미생물 배양용기에 일반 slide glass와 위에서 경화시킨 폴리카다놀 도막을 함께 넣고 배양한 후 표면에 존재하는 생물막의 형상을 관찰하여 **그림 11**에 나타내었다. **그림 11**에서 볼 수 있듯이 일반 slide glass 표면위에서는 다량의 미생물 군체가 성장하여 생물막을 형성하지만 폴리카다놀 도막위에서는 일부 군체만 보일 뿐 생물막을 형성시키지 못하는 것을 볼 수 있다.²¹ 이러한 폴리카다놀은 선박용 anti-fouling coating 신재료로 사용될 가능성이 있다. 우선 폴리카다놀 도막은 매우 우수한 내화학적 및 내수성을 가지고 있어서 해수에 의하여 도막의 손상이 관찰되지 않는다. 동시에 이러한 성질로 인하여 도막을 형성시켰을 경우 도막이

표 3. 여러 가지 용매 조건하에서의 카다놀 중합

No	카다놀 (mmol)	유기용매	생촉매	수율(%)	Mn	Mw
1	2.0	Methanol	SBP	42.5	3,540	12,808
2	2.0	Ethanol	SBP	50.4	4,096	10,974
3	2.0	Isopropanol	SBP	72.5	3,411	8,221
4	2.0	t-Butanol	SBP	0	—	—
5	2.0	1,4-Dioxane	SBP	0	—	—
6	2.0	Isopropanol	HRP	0	—	—



Polycardanol



Slide glass

그림 11. 폴리카다놀 및 유리표면에서의 biofilm 형성 사진 (SEM).

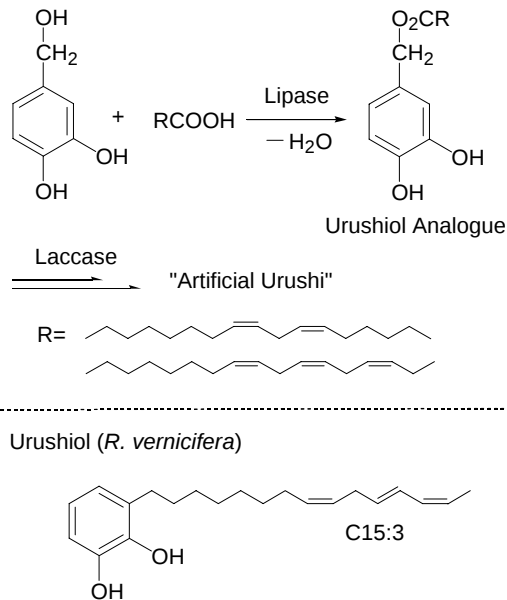


그림 12. 효소를 활용한 인공 옷칠(artificial urushi)의 합성.

염수에 의한 부식을 방지할 수 있다. 이러한 특성은 해양 raft 실험을 통하여 일부 증명이 되고 있다.

카다놀과 유사한 화학구조를 갖는 옷칠은 도막강도뿐만 아니라 내약품성, 절연성 및 방오특성 등이 우수하여 우리나라를 비롯한 동양에서 5000년 이상 천연도료로 사용해 오고 있다. 이것은 효소(laccase)의 작용에 의하여 상온에서 반응·경화하는 것으로 알려져 있다. 옷칠을 형성하는 주요성분은 urushiol이라고 하는 3-alkenyl catechol 유도체이다. 최근, 효소촉매를 이용한 산화중합과 함께 경화반응으로 이어지는 laccase의 특성을 확장시켜, urushiol 유사체를 합성하고 이것을 laccase를 촉매로 사용하여 경화시킴으로써 옷과 유사한 도막특성을 나타내지만 천연 옷칠과 달리 allergy를 일으키지 않는 인공 옷칠(artificial urushi)도 개발되었다(**그림 12**).^{23,24}

3. 효소를 활용한 폴리에스테르의 합성

효소를 촉매로 활용한 고분자 중합에 있어서 가수분해효소가 압도적으로 많이 활용되고 있다. 자연계에 가장 다양하게 존재하며 공업적 측면에서도 다른 효소들에 비하여 저렴한 것이 많고 입수 또한 상대적으로 용이하기 때문에 생각된다. 자연계에서 glycosyl 결합, 에스테르 결합, peptide(amide) 결합 등의 결합

절단을 수반하는 가수분해를 촉매 하는 효소가 중합촉매로서 기능을 하기 위해서는 기질 단량체간의 결합형성을 반복적으로 수행하여 효소 본래의 촉매작용과는 역반응을 촉매 하는 역할이 필요하다.

생분해성 플라스틱은 환경 저 부하형의 차세대 고분자재료로서 매우 중요하게 인식되고 있다. 이와 같은 생분해성 고분자들의 대부분이 지방족폴리에스테르로서 이들의 합성은 미생물발효에 의한 합성이나 화학적 합성공정을 활용한 중합방법에 의해 제조되어 왔다. 그러나 최근에는 가수분해 효소의 일종인 리파제(lipase)를 촉매로 활용한 지방족폴리에스테르의 합성이 새로운 합성법으로서 확립되어가고 있다. 리파제는 본래 자연계와 같이 수분이 존재하는 환경 하에서 식물성 기름과 같은 고급지방산 트리글리세라이드의 가수분해 효소이지만 유기용매 중에서는 에스테르화 반응과 에스테르 교환반응의 촉매로서 작용하는 것이 보고 되었으며 유기합성에 있어서 리파제의 유용성이 넓어지고 있다.²⁵ 이와 같은 리파제의 특이한 촉매특성을 이용하여 폴리에스테르의 합성이 이루어져 왔으며, **그림 13**에서 보는 바와 같이 주로 락톤류, 디카르본산 유도체, 옥시산(oxyacide) 유도체 등이 단량체로 사용되어 온화한 조건에서 중합이 진행된다.^{26,27}

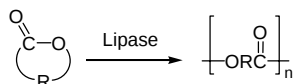
다양한 형태의 락톤류(cyclic esters, 4-17 memberd)의 단량체가 리파제의 촉매작용에 의해 개환중합이 진행됨을 발표하였다.²⁷ 생분해성 폴리에스테르로서 공업화되어 있는 poly(ϵ -caprolactone) (PCL)이 효소를 촉매로 활용한 개환중합으로도 용이하게 합성되었다. 지금까지 유래된 다양한 종류의 리파제가 ϵ -

caprolactone의 개환중합반응에서의 촉매활성이 나타남을 확인하였으며,²⁸ 다공성 아크릴수지를 담체로 사용하여 고정화한 *Candida Antarctica* 리파제(lipase CA, 상품명 : Novozym® 435)가 가장 높은 촉매활성을 나타내었다.²⁹ 톨루엔을 소량 첨가하고 중합을 수행하면 수평균 분자량(Mn) 4×10^4 이상의 PCL을 효율적으로 얻을 수 있었고, 이와 같은 중합반응을 초임계 이산화탄소에서 시도하였으며 비교적 높은 분자량의 PCL이 얻어짐을 보고하였다. 또한 리파제 CA는 반복사용이 가능하였으며 5회 까지는 중합활성의 저하 없이 사용할 수 있음을 보고하고 있다.³⁰

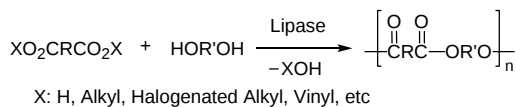
리파제를 촉매로 활용한 락톤류의 중합 메카니즘은 다음과 같이 추정된다.³¹⁻³³ 리파제 촉매에 의한 반응은 acyl-enzyme 중간체를 경유하여 진행된다고 알려져 있다. 락톤 중합에서도 **그림 14**에 나타난 바와 같이 리파제와 락톤으로부터 리파제-락톤 중간체를 형성하고 다시 락톤의 개환에 의해 acyl-enzyme 중간체를 제공한다. 이 중간체는 효소활성화 단량체(enzyme activated monomer: EM)로 볼 수 있다. 이 중간체와 효소중에 함유되어 있는 물과의 반응으로 ω -hydroxycarboxylic acid(n=1)이 생성됨으로써 중합이 개시된다고 추정하며, 성장단계(propagation stage)에서는 중간체와 폴리머 말단기가 반응하여 폴리머의 중합도가 증가된다. 이처럼 효소촉매에 의한 락톤의 중합은 효소에 의한 단량체의 활성화가 전체 중합과정 중에서 속도결정단계로 추정하고 있다.³⁴

리파제를 촉매로 활용한 락톤류 중합반응의 특징으로서 통상의 화학촉매를 사용할 경우에는 중합능이 낮

Ring-opening Polymerization of Lactones



Polycondensation of Dicarboxylic Acids or Their Derivatives with Glycols



Polycondensation of Hydroxyacids or Their Esters

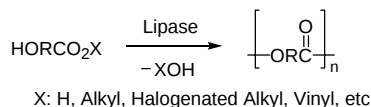


그림 13. 리파제를 활용한 폴리에스테르의 합성.

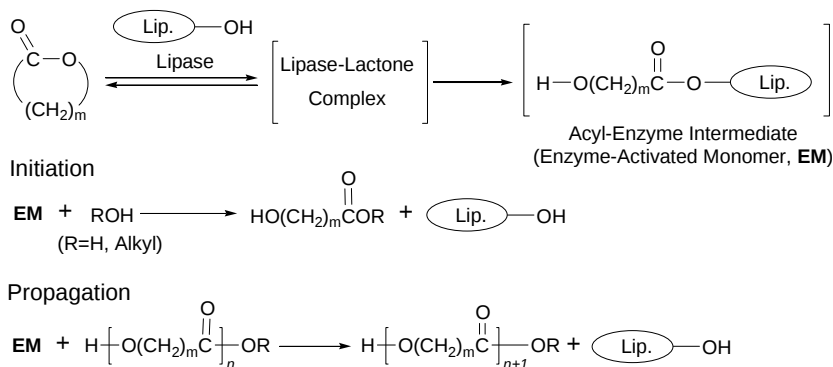


그림 14. 리파제를 촉매로 활용한 락톤류의 중합 메커니즘.

은 대환상 락톤(macrocyclic lactones, macrolides)에 대해 높은 중합반응성을 들 수 있다.³⁵ Pseudomonase 속 리파제를 사용할 경우 ϵ -caprolactone 보다 매우 빠르게 중합을 진행한다. 상세한 반응속도 해석으로부터 락톤환원 크기(ring size of lacton)에 의한 중합성의 차이가 리파제-락톤 복합체로부터 acyl-enzyme 중간체(EM)로의 반응단계에 의한 것이라고 밝히고 있으며, 이것은 macrocyclic lactone이 개환반응이 일어나기 용이하게 리파제의 촉매활성부로 알려진 세린잔기(serine residue)에 가깝게 배열하기 때문으로 추정하고 있다.³¹⁻³⁴

리파제 촉매에 의한 폴리에스테르 합성에서는 중합 중에 에스테르교환반응이 빈번하게 일어난다. 이 때문에 락톤류의 공중합에서는 락톤의 단일중합성의 차이가 큰 단량체의 조합에 있어서도 random 공중합체가 얻어지는 경우가 많았다.³⁶ 이와 같은 효소의 특이성을 활용하여 PCL 존재 하에서 환의 크기가 큰 락톤류의 중합을 시도하여 공중합체를 합성하였다.³⁷ 아울러, 리파제를 촉매로 활용하여 서로 다른 지방족 폴리에스테르간의 에스테르 교환반응을 진행시킴으로써 random 공중합 폴리에스테르가 형성됨을 밝혔다.^{37,38}

리파제를 활용한 증축합반응도 활발하게 진행되고 있다. Dicarboxylic acid와 α,ω -glycols의 중합은 글리콜류가 액상인 경우는 리파제 CA(lipase CA)를 촉매로 활용하여 용매를 사용하지 않고도 중합반응을 진행시킬 수 있으며, 감압 하에서의 중합은 수평균분자량(Mn)을 1×10^4 이상으로 향상시킬 수 있다.^{39,40} Adipic acid와 1,6-hexanediol로부터는 200 kg 이상의 규모로 폴리에스테르 중합이 가능함을 보고하고 있다.⁴¹ 또한, 리파제를 촉매로 활용함으로써 물을 용매로 사용해서 dicarboxylic acid와 α,ω -glycols의 탈수축합반응이 가능함을 보고하고 있다.⁴² 이것은 겔

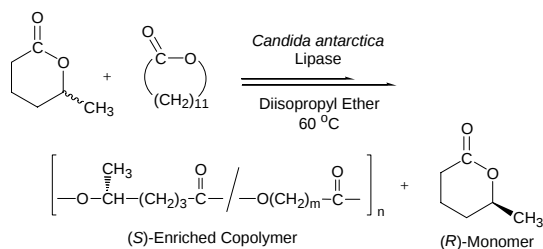


그림 15. 리파제에 의한 락톤류의 enantioselective 공중합.

보기 상 질량작용의 법칙(law of mass action)에 반하는 현상이며 새로운 개념이라 할 수 있다. 이들 반응계는 온화한 반응조건에서 유기용매나 독성이 높은 촉매들을 사용하지 않기 때문에 환경친화형 폴리에스테르 중합공정으로서 기대된다.

유기합성 분야에서는 리파제가 광학분할 촉매로서 빈번하게 이용되어 왔다. 이와 같은 성질을 고분자 합성에 응용함으로써 광학활성 고분자가 합성되었다.^{43,44} 리파제 CA를 촉매로 활용하여 4위치에 메틸기 또는 에틸기를 갖는 ϵ -caprolactone의 공중합에서는 (S)-enantiomer가 선택적으로 중합되어 높은 광학순도를 갖는 폴리에스테르가 얻어졌다(그림 15).⁴³ 또한, 불포화기를 갖는 락톤류의 효소촉매중합에서는 관능기 선택적으로 중합이 되어 불포화기를 함유하는 폴리에스테르가 합성이 됨을 보고하였으며, 이 폴리머는 라디칼 개시제에 의해 용이하게 경화되었다(그림 16).⁴⁴

리파제 촉매의 특성을 살린 위치선택적 중합도 개발되었다. 리파제 CA를 촉매로 활용하여 divinyl sebacate와 glycerol의 중합에서는 겔화가 일어나지 않고 가용성의 폴리에스테르를 합성할 수 있다. 중합조건의 적절한 선택에 의해 위치선택적 반응이 진행될 수 있으며 glycerol의 1,3-위치의 반응만으로 이루어진 선상의 폴리에스테르가 합성됨을 발표하였다(그림

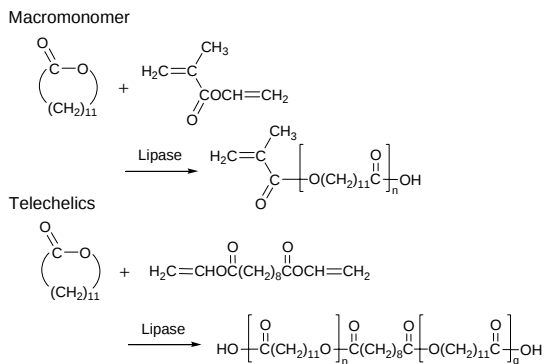


그림 20. 리파제를 활용한 macromonomer 및 telechelics의 합성.

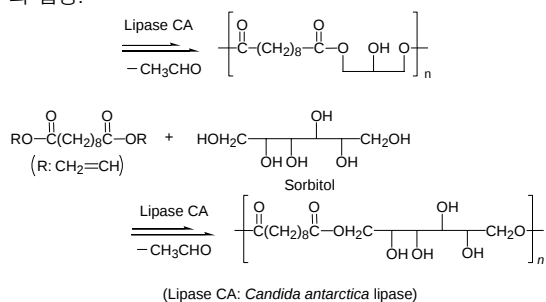


그림 17. 리파제를 활용한 폴리에스테르의 위치선택적 중합.

17).⁴⁵ Sorbitol과의 중합에서는 위치(1,6 position)선택적으로 acyl화되어 당(sugar) 함유 폴리에스테르가 얻어짐을 발표하였으며, 이 결과로 Polytechnic Univ.의 Richard A. Gross가 재생자원(renewable resource)을 활용한 환경친화적 공정에 의한 고분자합성법의 개발로 미국 EPA에서 수여하는 Green Chemistry Award를 수상하였다.⁴⁶

리파제를 촉매로 활용하여 새로운 가교성 폴리에스테르도 개발되었다. 식물성 유래 불포화카르복실산 존재 하에 divinyl sebacate와 glycerol의 중합반응을 수행하면 측쇄에 불포화기를 갖는 폴리에스테르가 1단계로 합성이 가능함을 보고하였다(그림 18).⁴⁷ 이 중합과정을 감압 하에서 진행하면 분자량과 함께 수율이 높아지며, 불포화기는 cobalt naphthenate를 촉매로 사용하거나 열을 가하여 가교시킴으로써 생분해성의 투명필름을 형성할 수 있다.

말단기 반응성의 폴리에스테르의 효소를 활용한 합성도 보고 되고 있다. Alkyl glucoside를 개시제로 하여 ε-caprolactone의 중합을 진행시킬 때 리파제 CA를 촉매로 사용함으로써 glucoside의 6 위치의 수산기로부터 위치선택적으로 중합이 개시됨을 보고하였

다(그림 19).⁴⁸ 수산기를 여러 개 가지고 있는 dendrimer(1세대)를 개시제로 사용하는 경우에도 dendrimer 1개에 하나의 개시점 만으로 제어된다는 연구결과도 발표되었다.⁴⁹ 또한, 소량의 vinyl methacrylate나 2-hydroxyethyl methacrylate의 존재 하에서 락톤류의 중합에 의한 methacrylate 형의 macromonomer의 합성에 관한 연구도 이루어졌다(그림 20).⁵⁰ 아울러, divinyl sebacate를 소량 첨가하면 양 말단에 카르복실산기를 갖는 telechelics가 얻어질 수 있다.⁵¹

지방족 폴리에스테르의 경우 대부분은 물속에서 리파제의 촉매작용에 의해 분해반응이 진행되며 토양 속에서는 생분해성 특성을 나타내는 경우가 많다. 한편, 유기용매 중에서는 많은 경우에 폴리에스테르 합성반응이 진행되지만 반응조건을 적절히 선택함으로써 분해를 유발시키는 것도 가능하다.⁵² 그와 같은 조건하에서 고분자량(4×10⁴)의 PCL이 리파제의 촉매작용에 의해 분해 되어 분자량 수백(<500)의 올리고머로 변환됨을 보고하였으며, 이와 같이 효소를 활용한 분해반응은 산촉매를 사용한 화학적 분해반응(random bond cleavage)과는 다른 것으로 보고하고 있다.⁵² 용매를 감압 하에서 제거하고 남겨진 올리고머와 효소를 그대로 가열하면 폴리머가 재합성된다고 알려져 있

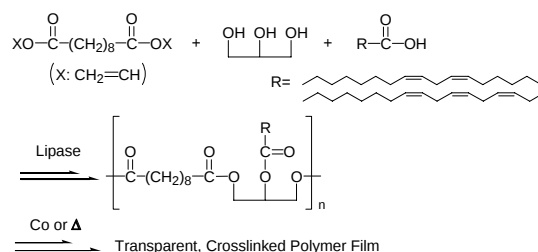


그림 18. 리파제를 활용한 식물성 오일 유래 가교성 폴리에스테르의 중합.

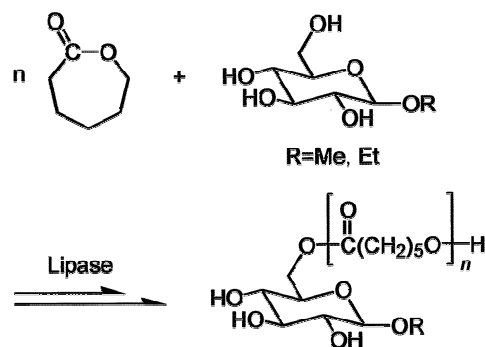


그림 19. 리파제를 활용한 당사슬 함유 폴리에스테르의 중합.

며 가역적인 상기 과정을 반복적으로 수행할 수 있다고 알려져 있다. 이 결과로부터 용매의 유무라고 하는 간단한 조건 설정에 의해 중합과 분해반응을 제어한다고 하는 새로운 리사이클 수법으로서의 가능성을 제시하고 있고 이 수법을 폴리에스테르와 폴리카보네이트 등에도 적용하는 연구와 함께 초임계 이산화탄소를 이용한 리사이클 시스템의 구축도 연구되고 있다.⁵³

4. 결론

21세기는 생명공학기술(BT)의 시대라 할 만큼 BT에 대하여 사회적 관심이 집중되고 있다. 이와 같은 BT가 현재 가장 큰 영향력을 미치는 분야는 의료분야이며 이를 유럽에서는 Red Biotechnology로 표현하고 있으며, 또한 농업분야에 적용되는 BT를 Green Biotechnology로 분류하고 있다. 이러한 Red BT와 Green BT를 제 1세대 및 2세대로 정의 한다면 각종 공업화학 및 환경, 에너지 등에 적용되는 Industrial Biotechnology(White BT)는 제 3세대로 분류할 수 있을 것이다.

최근 유럽 및 미국을 중심으로 한 화학 산업계에서는 화석원료가 고갈되어 가고, 환경친화적인 공정의 요구에 부응하기 위하여 White BT를 대안으로 정하고 있다. 즉 화석원료를 대신할 수 있는 식물 및 동물로부터 얻어지는 재생가능자원(Renewable Resource)을 원료로 하고 환경친화적인 BT 공정을 적용하고자 하는 노력이 활발히 진행 중이다.

아울러 고분자 산업에서도 효소 및 whole-cell을 활용한 새로운 단량체, 마크로머 및 폴리머의 중합연구도 최근 들어 활발히 진행되고 있다. 본 고에서는 이와 같은 추세에 따라 최근 효소를 활용한 고분자의 중합에 관한 동향 등을 알아보았고 더 자세한 내용은 참고문헌 2~5를 참조하기 바라며, 국내에서도 이에 관한 연구가 보다 활발히 진행되어 환경친화적이며 새로운 고분자소재의 개발이 활발히 이루어지길 기대합니다.

참고문헌

1. A. Schmid, F. Hollmann, J. B. Park and B. Bühler, *Curr. Opin. Biotech.*, **13**, 359 (2002).
2. S. Kobayashi, H. Uyama, and S. Kimura, *Chem.*

- Rev.*, **101**, 3793 (2001).
3. R. A. Gross, A. Kumar, and B. Kalra, *Chem. Rev.*, **101**, 2097 (2001).
4. H. N. Cheng and R. A. Gross (Eds.), *ACS Symp. Ser.*, 900, 2005.
5. R. A. Gross and H. N. Cheng (Eds.), *ACS Symp. Ser.*, 840, 2002.
6. A. S. Hay et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **81**, 6335 (1959).
7. J. S. Dordick et al., *Biotech. Bioeng.*, **20**, 31 (1987).
8. H. Ritter, *Trends Polym. Sci.*, **1**, 171 (1993)
9. S. Kobayashi, S. Shoda, and H. Uyama, *Adv. Polym. Sci.*, **121**, 1 (1995).
10. T. Oguchi, S. Tawaki, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Macromol. Rapid Commun.*, **20**, 401 (1999).
11. H. Tonami, H. Uyama, S. Kobayashi, and M. Kubota, *Macromol. Chem. Phys.*, **200**, 2365 (1999).
12. R. Farrell et al., *J. Environ. Polym. Degrad.*, **6**, 115 (1998).
13. H. Uyama et al., *Biomacromol.*, **3**, 187 (2002).
14. N. Mita et al., *Chem. Lett.*, 402 (2002).
15. Y. J. Kim et al., *Macromolecules*, **36**, 5058 (2003).
16. N. Mita, S. Tawaki, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Polym. J.*, **33**, 374 (2001).
17. N. Mita et al., *Macromol. Biosci.*, **3**, 253 (2003).
18. H. Uyama and S. Kobayashi, *CHEMTECH*, **29**, 22 (1999).
19. R. Ikeda, *Macromolecules*, **29**, 3053 (1996).
20. W. Liu et al., *Chem. Mater.*, **12**, 1577 (2000).
21. Y. H. Kim et al., *Biotech. Lett.*, **25**, 1521 (2003).
22. K. H. Won et al., *Biomacromol.*, **5**, 1 (2004).
23. S. Kobayashi et al., *Chem. Lett.*, 1214 (2000).
24. S. Kobayashi et al., *Chem. Eur. J.*, **7**, 4754 (2001).
25. E. Santaniello, P. Ferraboschi, P. Grisenti, and A. Manzocchi, *Chem. Rev.*, **92**, 1071 (1992).
26. S. Kobayashi, H. Uyama, and M. Ohmae, *Bull. Chem. Soc.*, **74**, 613 (2001).
27. S. Kobayashi and H. Uyama, *Curr. Org. Chem.*, **6**, 209 (2002).
28. H. Uyama and S. Kobayashi, *Chem. Lett.*, 1149 (1993).
29. D. Knani, A. L. Gutman, and D. H. Kohn, *J. Polym. Sci. Polym. Chem.*, Ed. **31**, 1221 (1993).
30. S. Kobayashi et al., *Macromol. Chem. Phys.*, **199**,

- 1729 (1998).
31. S. Kobayashi, H. Uyama, and S. Namekawa, *Polym. Degrad. Stab.*, **59**, 195 (1998).
32. S. Namekawa, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Int. J. Bio. Macromol.*, **25**, 145 (1999).
33. S. Kobayashi and H. Uyama, *Macromol. Symp.*, **144**, 237 (1999).
34. H. Uyama, S. Namekawa, and S. Kobayashi, *Polym. J.*, **29**, 299 (1997).
35. H. Uyama et al., *Macromolecules*, **28**, 7046 (1995).
36. S. Kobayashi, H. Uyama, S. Namekawa, and H. Hayakawa, *Macromolecules*, **31**, 5655 (1998).
37. S. Namekawa, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Macromol. Chem. Phys.*, **202**, 801 (2001).
38. T. Takamoto, P. Kerep, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Macromol. Biosci.*, **1**, 223 (2001).
39. H. Uyama, K. Inada, and S. Kobayashi, *Chem. Lett.*, 1285 (1998).
40. H. Uyama, K. Inada, and S. Kobayashi, *Polym. J.*, **32**, 440 (2000).
41. F. Binns et al., *J. Chem. Soc., Perkin Trans.*, **1**, 2671 (1999).
42. S. Kobayashi, H. Uyama, S. Suda, and S. Namekawa, *Chem. Lett.*, 105 (1997).
43. H. Kikuchi, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Macromolecules*, **33**, 8971 (2000).
44. H. Uyama, S. Kobayashi, M. Morita, S. Habaue, and Y. Okamoto, *Macromolecules*, **34**, 6554 (2001).
45. H. Uyama, K. Inada, and S. Kobayashi, *Macromol. Biosci.*, **1**, 40 (2001).
46. S. K. Ritter, *Chem. Eng. News*, **81**, 30 (2003).
47. T. Tsujimoto, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Biomacromolecules*, **2**, 29 (2000).
48. K.S. Bisht et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, 1363 (1998).
49. A. Córdova et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, 13521 (1998).
50. H. Uyama, S. Suda, and S. Kobayashi, *Acta Polym.*, **49**, 700 (1998).
51. H. Uyama, H. Kikuchi, and S. Kobayashi, *Chem. Lett.*, 1047 (1995).
52. S. Kobayashi, H. Uyama, and T. Takamoto, *Biomacromolecules*, **1**, 3 (2000).
53. T. Takamoto, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Macromol. Biosci.*, **1**, 215 (2001).