



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2009-0053328
(43) 공개일자 2009년05월27일

(51) Int. Cl.

C12P 7/04 (2006.01) C12P 7/16 (2006.01)

C12P 7/18 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2007-0120134

(22) 출원일자 2007년11월23일

심사청구일자 2007년11월23일

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울 성북구 안암동5가1 고려대학교 내

(72) 발명자

강정원

서울 송파구 문정2동 웨미리아파트 210동 303호

권정훈

서울 관악구 봉천동 1699-5 백산연립 101호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

이문섭, 윤여강

전체 청구항 수 : 총 5 항

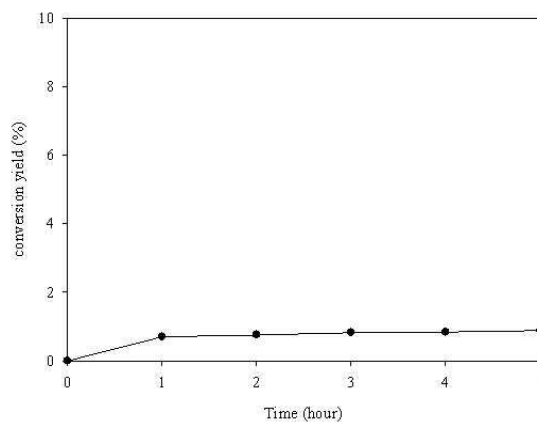
(54) 초임계 상태에서 리파아제를 이용하여 부티르산부틸을제조하는 방법

(57) 요약

본 발명은 부티르산과 부탄올로부터 부티르산부틸의 제조방법에 관한 것으로, 더욱 구체적으로 부티르산과 부탄올을 혼합한 후, 리파아제와 함께 반응 셀에 넣고 초임계 상태에서 에스테르화 반응을 수행하는 부티르산부틸의 합성방법에 관한 것에 관한 것이다.

본 발명에 따르면, 본 발명의 제조방법을 이용하여 상온상압의 조건에서 합성이 되지 않거나 낮은 수율을 보였던 부티르산 부틸을 초임계 상태의 리파아제 효소반응을 이용함으로써 합성하거나 고수율로 합성할 수 있다.

대 표 도 - 도5



(72) 발명자

정정영

충남 서천군 서천읍 군사5리 864-10번지

이미리

서울 송파구 잠실6동 장미3차 아파트 1동 303호,
138-226

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2004-E-ID12-P-01-3-020-2004

부처명 에너지 관리공단

연구사업명 에너지 자원 기술개발(에너지 절약)

연구과제명 초임계유체 물성 데이터베이스 및 모델 개발

주관기관 고려대청정화공시스템연구소

연구기간 2004년 01월 13일 ~ 2007년 09월 12일

특허청구의 범위

청구항 1

부티르산과 부탄올을 혼합한 후 헥산을 첨가하는 단계, 및

상기 결과물과 리파아제를 반응 셀에 넣고 초임계 상태에서 리파아제 효소를 이용하여 에스테르화 반응을 수행하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 부티르산부틸의 제조방법.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 초임계 상태를 만들기 위한 유체는 초임계 이산화탄소인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 3

제 1항에 있어서, 상기 리파아제는 캔디다 안타티카 리파아제 B인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 4

제 1항에 있어서, 상기 첨가되는 부티르산과 리파아제의 중량비는 2:1 내지 5:1인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 5

제 1항에 있어서, 상기 부탄올은 n-부탄올, iso-부탄올, sec-부탄올 또는 tert-부탄올인 것을 특징으로 하는 방법.

명세서

발명의 상세한 설명

기술 분야

- <1> 본 발명은 초임계 상태에서 리파아제를 이용하여 부티르산부틸을 제조하는 방법에 관한 것으로, 더욱 구체적으로 부티르산과 부탄올 이성질체를 기질로 하고 리파아제 효소반응을 이용하여 부티르산부틸을 합성하는 공정에 초임계 유체를 동시에 적용시키는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 부티르산부틸 제조방법에 관한 것이다.

배경 기술

- <2> 에스테르화반응(Esterification)은 산업적으로 비중이 크고 매년 많은 산업 생산량을 차지하고 있다. 에스테르(ester)는 대부분 향수 및 향료 산업분야, 화장품 산업 및 제약분야, 다양한 가스제나 중합체, 용매 등 여러 분야에서 사용된다. 본 발명에서의 최종 생성물인 부티르산부틸 중 하나인 tert-부티르산 부틸도 향기관련 산업 분야에서 사용된다. 특히 과일 향을 함유하고 있어서 화장품 산업에 사용되고 있다. 그 밖에 의약품, 화장품 고분자의 가스제 및 용매로도 사용되는 물질의 하나이다. 에스테르는 주로 화학촉매를 이용한 반응을 통해 합성을 하거나 자연에서 추출하여 공급되고 있다. 하지만 화학촉매를 이용한 합성은 최근 부각되고 있는 친환경 정책에 반하고 과량의 화학촉매의 사용은 장치의 부식과 수율의 저하라는 문제점을 가지고 있다. 또한 자연에서 추출하는 방법은 높은 공정 가격문제와 공급량의 제한이 있어 친환경적이면서도 높은 수율을 얻을 수 있는 공정의 필요성이 절실하다. 이러한 이유로 생 촉매인 효소(enzyme)를 이용한 합성의 중요성이 높아지고 있다.
- <3> 본 발명에서는 에스테르 합성반응에 효과적인 대표적 고정화 효소인 캔디다 안타티카 리파아제 B(Candida Antarctica Lipase B, CALB)를 이용하였다. 리파아제 촉매를 이용한 상온 상압의 에스테르화 반응으로 n-부티르산부틸, iso-부티르산부틸, sec-부티르산부틸은 합성이 가능한 반면 tert-부티르산부틸의 합성은 할 수 없었다. 그래서 도입한 방법이 초임계 이산화탄소(supercritical carbon dioxide)를 용매로 사용하여 tert-부티르산부틸을 합성하는 것이다.
- <4> 이에, 본 발명자들은 상기 종래기술들의 문제점들을 극복하기 위하여 예의 연구노력한 결과, 초임계 상태에서 리파아제를 이용하여 최적화된 조건에서 에스테르화 반응을 통해 상온 상압에서 얻기 어려운 tert-부티르산부틸을 합성할 수 있을 뿐만 아니라 상온 상압에서 얻을 수 있지만 전환율이 낮았던 n-부티르산부틸, iso-부티르산부틸, sec-부티르산부틸의 전환율을 획기적으로 높일 수 있음을 확인하고, 본 발명을 완성하게 되었다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

- <5> 따라서, 본 발명의 주된 목적은 상온상압에서 합성되지 않거나 낮은 수율로 합성되는 부티르산부틸을 초임계 상태에서 리파아제 효소반응을 이용하여 합성하거나 고수율로 합성할 수 있는 방법을 제공하는 데 있다.

과제 해결수단

- <6> 본 발명의 한 양태에 따르면, 본 발명은 부티르산과 부탄올을 혼합한 후 헥산을 첨가하는 단계, 및 상기 결과물과 리파아제를 반응 셀에 넣고 초임계 상태에서의 리파아제 효소반응을 이용하여 에스테르화를 수행하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 부티르산부틸의 제조방법을 제공한다.
- <7> 본 발명의 부티르산부틸(butyl butyrate)은 부티르산과 부탄올의 에스테르화 반응으로 생성되는 유기산에스테르 물질을 말하는 것으로, 일반적으로 천연에서 사과 등의 과실 향기성분 및 치즈나 벌꿀 속에 존재하며, 과실향료의 중요한 성분을 차지하고 있다. 파인애플 향의 조합에 주로 사용되며, 베이커리제품, 비스킷, 아이스크림 등에도 사용된다.
- <8> 본 발명에서는 부티르산과 부탄올로부터 부티르산부틸을 합성하였으며, 특히 상온상압에서 합성하기 힘든 tert-부티르산부틸을 합성하였다는 점에서 매우 유용한 발명인 것이다. 상기 tert-부티르산부틸의 전환율은 약 1%인데, 비록 전환율이 1%라는 낮은 수치를 보였지만, 이 수치는 종래 상온상압으로는 전혀 합성할 수 없었던 것을 감안하면 당 업계에서는 획기적인 수치일 수 있다 (도 5 참조). 본 발명의 합성과정이 산업에 적용이 용이하고 비용이 적게 든다는 것을 고려할 때 더욱 가치 있는 발명이라 하겠다.
- <9> 본 발명의 제조방법에서, 상기 초임계 상태에서의 효소반응은 압력 75-175 bar, 온도 300-350 K 및 교반속도 100-200 rpm에서 반응시키는 것이 적당한데, 에스테르화 반응 후 전환율과 상기 조건을 유지하기 위한 경제성을 고려하면, 본 발명의 실시예에서와 같이 130 bar, 325,15 K 및 150 rpm에서 반응시키는 것이 바람직하다.
- <10> 본 발명의 제조방법에서, 상기 초임계 상태를 만들기 위한 유체는 초임계 상태로 효소반응 공정에 투입할 수 있는 어떠한 물질도 가능하나 바람직하게는 초임계 이산화탄소인 것을 특징으로 한다.
- <11> 본 발명에서와 같이, 초임계 이산화탄소를 이용하면 높은 용해력, 빠른 물질 전달과 열전달, 낮은 점도, 높은 확산계수 그리고 낮은 표면장력으로 인해 반응속도를 빠르게 증가시킬 수 있어 대기압 상태에서의 부티르산부틸의 에스테르화 반응의 단점인 느린 반응속도의 단점을 보완할 수 있다. 이와 더불어 초임계 상태에서 반응을 수행함으로써 고수율의 에스테르화 반응을 유도할 수 있다. 뿐만 아니라 상온상압에서는 합성되지 않는 tert-부티르산부틸을 초임계 상태에서의 효소반응을 이용하여 합성할 수 있으므로 산업 상 매우 유용한 발명이라 할 수 있다.
- <12> 본 발명의 방법에서, 상기 리파아제는 에스나프록센에 대하여 광학선택성이 있는 효소라면 특별히 제한을 두지 않으며, 리파아제, 에스터라아제 또는 프로테아제 등으로부터 선택될 수 있으나, 바람직하게는 캔디다 안타티카 리파아제 B를 사용하는 것이 적당하다.
- <13> 본 발명의 제조방법에서, 상기 첨가되는 부티르산과 리파아제의 중량비는 초임계 상태의 반응조건에 따라 적절히 조절될 수 있으나, 바람직하게는 2:1 내지 5:1, 더욱 바람직하게는 2:1 내지 3:1이 적당하다. 본 발명의 실시예에서는 약 3:1 즉, 부티르산 8.8106g에 대하여 리파아제는 3g을 사용하여 효소 반응을 수행하였다.
- <14> 상기 리파아제의 첨가량이 상기 중량비 범위 보다 적은 경우, 충분한 에스테르화 반응이 일어나지 못하게 되고, 반대로 상기 중량비 범위를 초과하는 경우는 전환율에 큰 변화가 없으므로 경제적이지 못하게 된다.
- <15> 본 발명의 제조방법에서, 상기 부탄올은 n-부탄올, iso-부탄올, sec-부탄올 또는 tert-부탄올 중에서 선택될 수 있으며, n-부탄올, iso-부탄올, sec-부탄올 또는 tert-부탄올 중에서 목적으로 하는 에스테르를 선택하여 반응을 수행함으로써 각각 n-부티르산부틸, iso-부티르산부틸, sec-부티르산부틸 또는 tert-부티르산부틸을 얻을 수 있다.
- <16> 본 발명에서, n-부티르산부틸, iso-부티르산부틸, sec-부티르산부틸은 본 발명의 초임계 상태에서의 에스테르화 반응을 이용하여 종래의 상온상압에서 에스테르화 반응을 수행하는 것보다 현저히 높은 전환율로 목적 산물을 얻을 수 있다(도 2, 3, 4 참조). 특히, tert-부티르산부틸은 종래 상온상압에서의 에스테르화 반응으로는 전혀 합성할 수 없었던 것을 감안하면 본 발명의 도 5에서와 같이 약 1%의 전환율로 얻을 수 있다는 사실 자체

만으로도 당 업계에서는 획기적인 발명이라 할 수 있다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

- <17> 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하기로 한다. 이들 실시예는 단지 본 발명을 예시하기 위한 것이므로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지는 않는다.
- <18> **제조예 1. 초임계 상태에서 리파아제를 이용한 n-부티르산부틸의 제조**
- <19> 먼저, n-부티르산부틸(n-butyl butyrate)을 합성하기 위한 초임계 효소반응의 실험 장치는 도 1에 나타내었다. 캔디다 안타티카 리파아제에 의한 효소반응은 온도(323.15 K)와 압력(130 bar)의 조건에서 5시간동안 수행되었으며, 이 때 교반속도는 150 rpm에서 반응시켰다.
- <20> 구체적인 제조과정은 다음과 같다. 우선 비커에 0.1 M(9.14 ml)의 부티르산(Butyrate: 8.8106g, BUTYRIC ACID, Aldrich)과 n-부탄올 0.1 mol(9.14 ml)(n-butanol: 7.3400g, 1-Butanol, Aldrich)의 반응물을 100 ml 용량의 비커에 넣은 후 리파아제가 비활성을 나타내지 않는 헥산 31.72 ml(HEXANE, Aldrich)을 넣어 총 부피가 50 ml이 되도록 하였다. 이 때, 헥산을 첨가하는 이유는, 일반적으로 고체 촉매가 사용되는 반응에서는 반응물질이 적절하게 촉매와 섞여야 하기 때문에 반응물질의 부피를 고려하여 용매로서 헥산을 넣어준다. 보통 반응물질의 2~3배 정도로 첨가하게 되며, 본 발명에서는 반응에 사용되는 용매가 촉매의 활성에 방해가 되면 안 되기 때문에 헥산을 사용하였다. 초임계 상태(초임계 이산화탄소)에서의 과정은 도 1의 고압 반응기(11) 내에서 진행하였으며, 반응을 시작하기 직전 3g의 캔디다 안타티카 리파아제(candida antartical lipase, NOVO Nordisk, Denmark)를 반응 셀에 넣어준 후, 리파아제 효소에 의한 에스테르화 반응을 수행한다.
- <21> **제조예 2. 초임계 상태에서 리파아제를 이용한 iso-부티르산부틸의 제조**
- <22> 상기 제조예 1과 동일한 조건 하에서, iso-부티르산부틸을 제조하였다.
- <23> 구체적인 제조과정은 다음과 같다. 우선 비커에 0.1mm(9.14 ml)의 부티르산(Butyrate)과 iso-부탄올 0.1 mol(9.22 ml)의 반응물을 100 ml 용량의 비커에 넣은 후 리파아제가 비활성을 나타내지 않는 hexane 31.64 ml을 넣어 총 부피가 50 ml이 되도록 하였다. 이 때, 헥산의 양은 제조예 1과 반응물질의 밀도가 다르므로 약간의 차이가 있다. 초임계 상태(초임계 이산화탄소)에서의 과정은 고압 셀도 1의 (11)에서 진행하였으며, 반응을 시작하기 직전 3g의 캔디다 안타티카 리파아제(candida antartical lipase, NOVO Nordisk, Denmark)를 반응 셀에 넣어준 후, 리파아제 효소에 의한 에스테르화 반응을 수행한다.
- <24> **제조예 3. 초임계 상태에서 리파아제를 이용한 sec-부티르산부틸의 제조**
- <25> 상기 제조예 1과 동일한 조건 하에서, sec-부티르산부틸을 제조하였다.
- <26> 구체적인 제조과정은 다음과 같다. 우선 비커에 0.1mm(9.14 ml)의 부티르산(Butyrate)과 sec-부탄올 0.1 mol(9.16 ml)의 반응물을 100 ml 용량의 비커에 넣은 후 리파아제가 비활성을 나타내지 않는 hexane 31.70 ml을 넣어 총 부피가 50 ml이 되도록 하였다. 초임계 상태(초임계 이산화탄소)에서의 과정은 고압 셀도 1의 (11)에서 진행하였으며, 반응을 시작하기 직전 3g의 캔디다 안타티카 리파아제(candida antartical lipase, NOVO Nordisk, Denmark)를 반응 셀에 넣어준 후, 리파아제 효소에 의한 에스테르화 반응을 수행한다.
- <27> **제조예 4. 초임계 상태에서 리파아제를 이용한 tert-부티르산부틸의 제조**
- <28> 상기 제조예 1과 동일한 조건 하에서, tert-부티르산부틸을 제조하였다.
- <29> 구체적인 제조과정은 다음과 같다. 우선 비커에 0.1mm(9.14 ml)의 부티르산(Butyrate)과 tert-부탄올 0.1mol(9.56 ml)의 반응물을 100 ml 용량의 비커에 넣은 후 리파아제가 비활성을 나타내지 않는 hexane 31.30 ml을 넣어 총 부피가 50 ml이 되도록 하였다. 초임계 상태(초임계 이산화탄소)에서의 과정은 고압 셀도 1의 (11)에서 진행하였으며, 반응을 시작하기 직전 3g의 캔디다 안타티카 리파아제(candida antartical lipase, NOVO Nordisk, Denmark)를 반응 셀에 넣어준 후, 리파아제 효소에 의한 에스테르화 반응을 수행한다.
- <30> **실험예 1. 최종 생성물의 분석**
- <31> 제조예 1, 2, 3 및 4에서 수행한 에스테르화 반응의 결과로 얻어진 생산물을 시간별로 샘플링 파트인 도 2의 (10)을 통해 채취하였다. 샘플은 GC로 분석하였고, GC 장치는 Agilent Technology의 7890A를 사용하였다. 이 때 사용된 컬럼은 HP INNOWax 컬럼이다. 분석은 다음과 같은 조건에서 수행하였다. 인젝터(injector)는 250℃, 5.8 psi로 유지하고 오븐은 최초 3분간 70℃으로 유지하고, 그 후 5분은 40℃/min으로 200℃까지 상승시켰으며,

200℃에서는 5분간 retention하였다. 검출기(detector)는 FID를 250℃조건에서 사용하였다. 인젝션 부피는 1.0 μ l로 하였고, 운반기체는 헬륨(He)을 사용하였다. 컬럼은 5.8 psi, 유속은 1 ml/min으로 하고, 평균 유속은 20 cm/sec로 적용하였다. 수소의 유속은 35 ml/min, 공기의 유속은 250 ml/min, 헬륨의 유속은 30 ml/min을 설정하였다.

- <32> 도 2, 3, 4, 및 5에서 보는 바와 같이, 초임계 상태에서 5 시간 동안 323.15 K의 온도와 130 bar의 압력에서 n-, iso-, sec- 및 tert-부탄올의 에스테르화 반응을 수행한 결과, 최종 생성물인 n-, iso-, sec- 및 tert-부티르산부틸의 생성을 확인할 수 있었고, 그 결과는 도 3, 4, 5 및 6의 그래프에 나타내었다.
- <33> 도 2, 3, 4에서는 각각 n-부티르산부틸의 전환율이 반응 수행 4시간 후 약 99%였으며, iso-부티르산부틸의 전환율은 약 82%, sec-부티르산부틸은 약 30%에 이르렀다. 이 수치는 종래 상온상압 조건에서 에스테르화 반응을 수행하여 얻어지는 n-, iso-, sec- 및 tert-부티르산부틸의 전환율과 비교하면 월등히 높은 전환율을 나타낸다.
- <34> 또한, 도 5에서는 tert-부티르산부틸의 전환율이 약 1%로 나타남을 확인할 수 있는데, 이 수치는 종래 상온상압 조건에서 에스테르화 반응으로는 tert-부티르산부틸을 전혀 얻을 수 없었던 것과 비교하면 획기적인 방법이라 할 수 있다.

산업이용 가능성

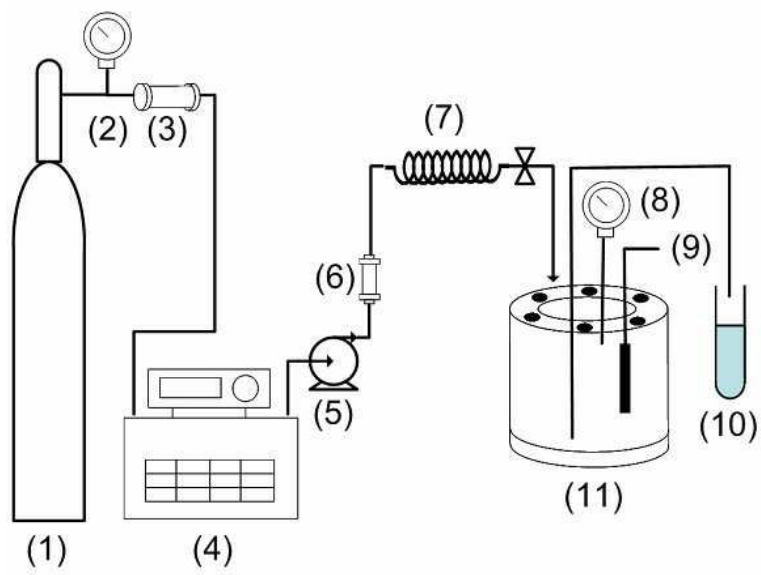
- <35> 이상 설명한 바와 같이, 본 발명에 따르면 상기 제조방법을 이용하여 상온 상압의 조건에서 얻기 어려운 tert-부티르산부틸을 합성할 수 있다. 따라서 본 발명의 방법에 따라 상온, 상압 조건에서 반응이 일어나지 않거나 낮은 수율을 보이는 n-, iso-, sec-부티르산부틸의 합성과정의 단점을 보완한 유용한 발명으로 향기관련 산업 분야에서 매우 유용하게 적용될 수 있을 것이다.

도면의 간단한 설명

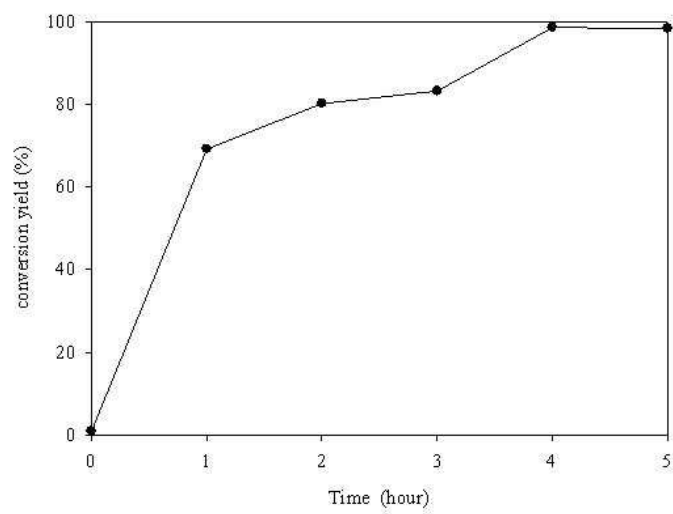
- <36> 도 1은 초임계 이산화탄소를 이용한 라파아제에 의해 에스테르화 반응을 수행할 수 있는 실험 장치이다: 세부설명 (1)이산화탄소 실린더, (2)압력게이지, (3)필터, (4)칠러 냉각기, (5)고압 펌프, (6)체크밸브(Check valve), (7)프리히터(Pre-Heater), (8)압력계, (9)온도계, (10)샘플 채취파트, (11)교반 가능한 고압 반응기.
- <37> 도 2는 초임계 이산화탄소를 이용한 에스테르화 반응을 수행하여 얻은 n-부티르산부틸의 전환율을 나타내는 그래프이다.
- <38> 도 3는 초임계 이산화탄소를 이용한 에스테르화 반응을 수행하여 얻은 iso-부티르산부틸의 전환율을 나타내는 그래프이다.
- <39> 도 4는 초임계 이산화탄소를 이용한 에스테르화 반응을 수행하여 얻은 sec-부티르산부틸의 전환율을 나타내는 그래프이다.
- <40> 도 5는 초임계 이산화탄소를 이용한 에스테르화 반응을 수행하여 얻은 tert-부티르산부틸의 전환율을 나타내는 그래프이다.

도면

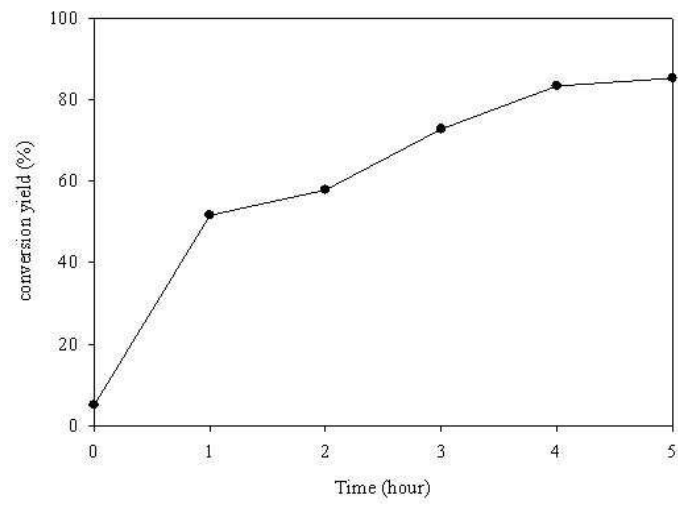
도면1



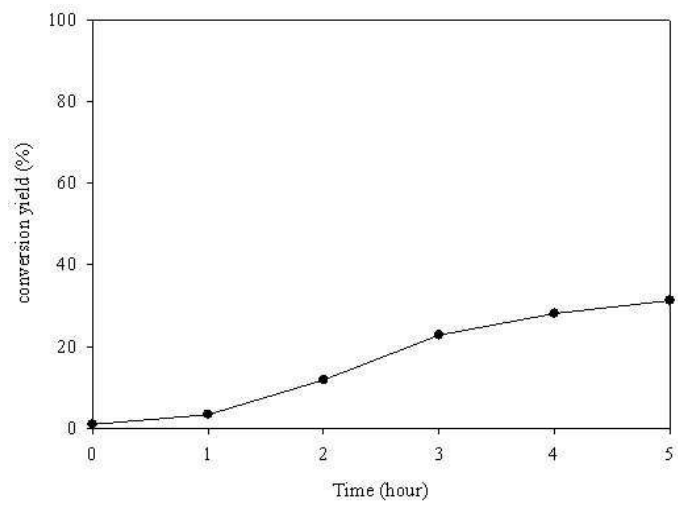
도면2



도면3



도면4



도면5

