

배당화 아크릴레이트와 메타크릴레이트의 효소적 합성

박대원 · 김해성

*연세대학교 공과대학 화학공학과
명지대학교 공과대학 화학공학과
(2003년 11월 4일 접수 ; 2004년 1월 15일 채택)

Enzymatic Synthesis of Glycosyl Acrylate and Methacrylate

Dae-Won Park · Hae-Sung Kim

*Department of Chemical Engineering, Yonsei University, Seoul 120-749, Korea
Department of Chemical Engineering, Myongji University, Yongin 449-728, Korea
*e-mail : seastar@mju.ac.kr

(Received November 4, 2003 ; Accepted January 15, 2004)

Abstract: Glycosyl acrylate and methacrylate were synthesized by lipase-catalyzed esterification of vinyl acrylate and vinyl methacrylate with β -methyl glucoside in *t*-butanol as a reaction medium. At the optimum conditions of initial concentration of 150g/l β -methyl glucoside, molar ratio of 1 : 3, 5%(w/v) lipase(Novozym 435) and 50°C, we attained up to 100% conversion for enzymatic glycosylation of vinyl acrylate and vinyl methacrylate by supersaturated solvent process. The polymerizable glycosyl acrylates and methacrylate are expected to have biomedical application as hydrophilic monomers and hydration modifiers to be used for biocompatible hydrogel.

Keywords : lipase-catalyzed esterification, glycosyl acrylate/methacrylate, glycosylation.

1. 서 론

기능성 단량체와 친수성 당분자를 다양한 입체구조적 결합방식으로 배당화하면 기능성 관능기의 종류와 친수성에 따라서 재료특성, 구조특성, 생분해성, 생체친화성을 복합적으로 나타내는 기능성 중합체를 합성할 수 있는데, 고기능성 복합소재를 필요로 하는 의용공학 분야와 생체재료분야에서는 배당화 고분자(glycosyl polymer)를 중심으로 새로운 연구가 이루어지고 있다[1]. 생체재료는 재료공학적 특성뿐만 아니라 투과선택성, 함수율, 생체적합성, 생체안전

성 등의 기능성이 중요시되며, 다가알콜인 당분자로서 중합될 수 있는 관능기를 가진 단량체를 배당화하면 재료특성 뿐만이 아니라 생체안정성과 생체친화성 및 생체공학적 특성이 조절되고, 배당화구조에 따라서 재료공학적 특성이 복합적으로 나타나는 생체고분자를 제조할 수 있다[2-3].

생체재료로서 바람직한 재료공학적 특성을 나타내기 위해서는 고분자 골격의 구조단위가 재료공학적 특성뿐만 아니라 생체친화성을 공유하여야 하며, 그 구조 내에 수산기, 카르복실기와 같은 친수성 그룹으로 고분자 골격을 이루는 탄

소의 소수성을 제어하여야 이상적인 생체재료가 되는 것으로 알려져 있다[4-6]. 친수성을 공유한 생체재료로 이용할 수 있는 단량체로는 메타크릴계열이 많이 이용되고 있는데, 최근 메타크릴 관능기가 당분자의 수산기로 배당화된 당고분자가 의용공학적인 특성이 우수하여 인공수정체와 콘택트렌즈용 소재로서 활용하기 위한 연구가 시도되고 있다[7]. 특히, 안구와 같이 민감한 부위에 착용되는 생체재료의 경우에는 광학특성과 함께 높은 흡수율과 산소투과도, 생체친화성과 안전성이 요구되는데, 폴리히드록시에틸 메타크릴레이트(polyhydroxyethyl methacrylate) 계열의 기존소재는 광학특성은 우수하지만 착용시의 이질감과 단백질 흡착 및 안구질환과 관계되는 상당한 문제점이 지적되고 있다[8]. 히드록시에틸 메타크릴레이트계열의 메타크릴 단량체는 광학특성이 우수하고 수산기와 카르복실기를 공유하면서 중합성 비닐기를 내재하고 있으므로 광학활성 생체고분자의 제조에 가장 많이 이용되고 있지만, 분자구조내에 수산기가 1개만 존재하므로 친수성과 생체친화성이 미흡하다고 판단된다. 다가알콜인 배당화제로 메타크릴기를 배당화하면 당분자의 구조특성과 친수도에 따라서 연속착용이 가능한 콘택트렌즈용 메타크릴 단량체를 합성할 수 있고 폴리히드록시에틸 메타아크릴레이트보다도 친수성과 생체친화성이 강화된 배당화 생체고분자를 얻을 수 있을 것으로 기대된다. 따라서, 당분자로 배당화한 메타크릴 단량체로부터 중합한 생체고분자는 우수한 의용공학적인 재료특성을 나타내며 생체재료로서 활용 가치가 높을 것으로 예상된다.

의용공학적인 생체재료의 합성반응기술은 생체친화성과 생체안전성이 우선시 되어야 하는데, 유전자조작기법에 근거한 효소반응기술의 발전과 함께 효소촉매의 위치특이성과 입체특이성을 이용하면 인체에 유해한 아노머의 생성반응을 방지할 수 있고 생체재료의 변성과 열화가 일어나지 않도록 재료안정성이 보장되는 온화한 반응조건을 설정할 수 있다는 점에서 효소촉매반응기술이 유망하다고 판단된다[9]. Klivanov[10]는 유기상 효소반응에서 가장 큰 문제점인 당의 용해도를 증가시키기 위하여 페닐보론산(phenylboronic acid)과 함께 3급 부탄올을 용매로 사용하여 리파제로 비닐아크릴레이트를 배당화하였고, Dordick[11] 등의 연구자들은 당을 용해시키기 위하여 피리딘을 반응매질로 하여

alkaline protease 촉매로 당비닐에스테르를 합성하고 효소적 배당화 기술발전에 주도적 역할을 하였으나, 기질의 용해도, 효소활성도와 효소비용, 반응매질의 생체안전성 등이 문제점으로 지적되고 있으며, 유기상에서도 우수한 활성을 나타내는 효소가 개발되고 효소반응기술에 관한 지속적인 공정개선이 이루어져야 한다.

본 연구에서는 복수의 수산기를 함유한 메틸글루코시드(methyl glucoside)와 함께 비닐아크릴레이트와 비닐메타크릴레이트를 리파제로 배당화 하여 생체재료 공학적 응용성이 기대되는 배당화 아크릴레이트/메타크릴레이트(glycosyl acrylate/methacrylate)의 효소적 합성공정을 제시하고 반응조건을 최적화하였다.

2. 실험

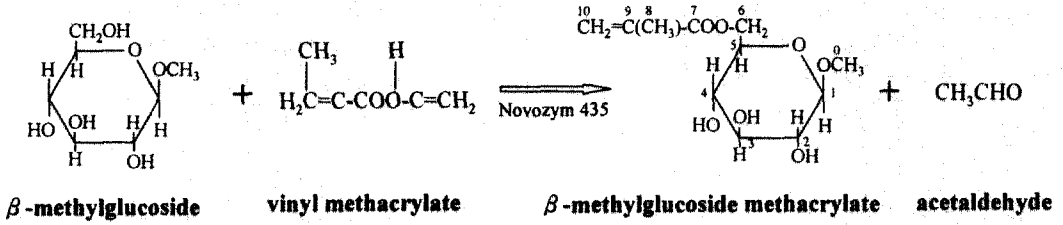
2.1. 재료

배당화제로 사용되는 메틸글루코시드(β -methyl glucoside : MG)는 Sigma제를 사용하였다. 글루코시드 아크릴레이트(glucoside acrylate)와 메타크릴레이트(methacrylate)를 합성하기 위한 효소촉매로는 Novozym 435(EC 3.1.1.3, *Candida antarctica*, 7000 proryl laurate units/g, Novo Nordisk) 고정화 리파제를 사용하였다. 아크릴산(acrylic acid : AA)과 메타크릴산(methacrylic acid : MA)은 Junsei제, 비닐아크릴레이트(vinyl acrylate : VA)와 비닐메타크릴레이트(vinyl methacrylate : VMA)는 TCI제를 사용하였고 수분제거제로는 제올라이트(molecular sieves, 3A, powder form, Sigma)를 사용하였다. 반응매질로 사용된 3급 부탄올(*t*-butanol)과 3급 아밀알콜(*t*-amyl alcohol), 아세톤(acetone), 디옥산(1,4-dioxane), 아세토니트릴(acetonitrile)은 제올라이트로 수분을 제거한 후 사용하였고, 기타 시약들은 HPLC급을 사용하였다.

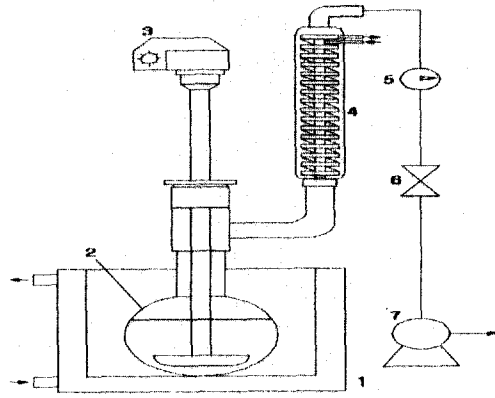
2.2. 실험방법

반응매질에 배당화제와 아크릴공여체를 용해시키고, 중합방지제로 하이드로퀴논(hydroquinone)을 0.05%(w/v) 첨가한 후에 효소합량, 배당화제 초기농도와 몰비, 아크릴공여체 등을 변화시키면서 반응온도 40~50°C로 유지된 Fig. 1의 회분식 반응기에서 아크릴공여체

를 리파제 촉매로 다음과 같이 배당화하였다.



계산하였다.



1. Water bath 2. Reactor 3. Stirrer
4. Condenser 5. Vacuum gauge
6. Needle valve 7. Vacuum pump

Fig. 1. Experimental reactor set-up for lipase-catalyzed glycosylation.

채취한 시료는 HPLC(600E pump & controller, M746 integrator, Waters)법으로 분석하였다. 메틸글루코시드의 농도는 탄수화물 칼럼(carbohydrate column, 4.6×250mm, Waters)에 20 μ l의 시료를 주입하고 아세토니트릴/초순수(75 : 25, 1.4ml/min)를 이동상으로 하여 RI검출기(R401 RI detector, Waters)로 측정하였고, 메틸글루코시드 아크릴레이트(methyl glucoside acrylate:MGA)와 메틸글루코시드 메타크릴레이트(methyl glucoside methacrylate : MGMA)는 아미노-실리카 칼럼(RCM 100, 8×100mm, Waters)을 고정상으로 하고 아세토니트릴/메탄올/초순수(55 : 45 : 5, 1ml/min)를 이동상으로 하여 UV검출기(205nm, 486 UV spectrophometer, Waters)로 분석하였다. 배당화 전환율은 반응 전후의 배당화제 농도차로서

3. 결과 및 고찰

3.1. 반응매질과 아실기의 반응성

배당화 반응매질은 배당화제의 용해도와 전환율, 효소안정성 및 생체안정성의 관점에서 검토되어야 한다. 3급 알콜류와 아세톤, 디옥산, 아세토니트릴 등의 용매가 배당화 전환율에 미치는 영향을 검토하기 위하여 리파제함량 1%(w/v), 메틸글루코시드 초기농도 50 g/l, 반응물 몰비 1:2(MG : AA,MAA,VMA), 반응온도 50 $^{\circ}$ C로 12시간 반응시킨 후에 배당화 전환율을 측정하였다. Table 1에 나타낸 바와 같이 3급 알콜류는 효소안정성이 우수할 뿐만 아니라 메틸글루코시드의 용해도가 높아서 그 전환율이 아세톤, 디옥산, 아세토니트릴의 경우보다도 2배이상 증가하였고, 3급 부탄올에서 전환율이 가장 높아서 3급 부탄올을 반응매질로 선정하였다. 또한, 메틸글루코시드에 대하여 강한 친화력을 나타내는 3급 부탄올의 경우에는 메틸글루코시드가 리파제의 활성점에 접근할 때에 1번탄소는 용매방향으로 배향되도록 하고 6번탄소의 수산기만이 활성점에 결합되도록 하는 위치선택효과(regioselective effect)를 기대할 수 있다[12].

Table 1. Effect of Organic Solvents on Conversion of β -methyl glucoside

Solvent	Conversion(%)		
	AA	MAA	VMA
1,4-Dioxane	10.5	5.3	10.68
Acetonitrile	3.88	0	7.77
Acetone	0	0	0
<i>t</i> -Butanol	21.4	24.6	37.9
<i>t</i> -Amyl alcohol	19.8	23.2	26.3

리파제의 활성부위는 정상시에는 닫힌 구조의 불활성화 상태이며, 리파제가 활성착화합물을 형성하기 위해서는 아실기의 계면흡착에 의하여 열린 활성구조로 전환되어야 한다. 아실기가 리파제의 활성점에서 계면흡착이 이루어지기 위해서는 아실기와 리파제의 계면흡착이 용이하도록 소수성 사슬구조이어야 하는데, 탄소사슬 길이가 긴 비닐메타크릴레이트는 아크릴산과 메타크릴산보다도 계면흡착이 용이하므로 배당화 반응성이 더 높았다. 비닐메타크릴레이트 경우에는 비닐기의 이중결합이 계면흡착에 관한 활성화에너지를 감소시키고, 배당화 반응시 생성된 비닐알코올이 생성과 동시에 아세트알데히드로 호변이성화(tautomeric isomerization) 되므로 배당화 반응이 비가역적으로 진행되기 때문에 아크릴산과 메타크릴산보다도 더 높은 전환율에 도달하였다. 따라서, 배당화반응이 효과적으로 진행되기 위해서는 아실기 공여체로서 아크릴산과 메타크릴산보다는 비닐아크릴레이트와 비닐메타크릴레이트가 바람직하다고 판단되었다.

3.2. 효소 첨가량

생체재료의 합성반응기술은 생체친화성과 재료안전성이 우선시 되는데 효소촉매의 기질특이성과 위치특이성을 이용하면 인체에 유해한 변위체(anomeric mixture)의 생성반응을 방지할 수 있고 생체재료의 변성과 열화가 일어나지 않도록 재료안정성이 보장되는 온화한 반응조건을 설정할 수 있다. 그러나, 효소적 합성공정은 효소촉매가 화학촉매에 비하여 그 활성도가 낮기 때문에 효소비용의 비중이 크고 수율과 생산성이 낮아서 생산공정으로 발전되지 못하고 연구수준에 머물러 있다. 따라서, 효율적인 효소적 합성공정이 제시되기 위해서는 효소첨가량이 경제적 관점에서 최적화되어야 하는데, 효소적 합성공정이 화학적 합성공정에 대하여 경제성을 확보하기 위해서는 가능한 한 효소첨가량이 최소화되어야 한다. Fig. 2는 리파제(Novozym 435)의 첨가량이 배당화 전환율에 미치는 영향을 비교분석한 연구결과이며, 반응체적에 대한 중량백분율로 1%에서 5% 까지 첨가하고 메틸글루코시드 초기농도 50 g/l, 반응물 몰비 1:2(MG : VMA), 반응온도 50°C에서 48시간 동안 반응시키면서 배당화 전환율을 측정하였다.

배당화 전환율은 효소첨가량과 함께 증가하였으며 효소첨가량 1, 3, 5%일 때 최종전환율이

각각 78, 92, 98%에 도달하였고, 효소첨가량 5%에서 100%에 근접하였다. 배당화 메타크릴레이트 합성반응계는 반응매질의 종류에 따라서 극성반응계와 비극성반응계로 구분되는데, 피리딘으로 대표되는 극성반응계는 배당화제의 용해도는 높지만 효소활성도가 낮기 때문에 효소첨가량이 높은 반면에 비극성반응계는 배당화제의 용해도는 낮지만 효소활성도가 높기 때문에 효소첨가량은 낮아도 된다. 피리딘을 반응매질로 하여 비닐아크릴레이트를 배당화한 Dordick[5]은 자당농도 50g/l에서 alkaline protease 촉매를 10%(w/v) 첨가하였고, 아세톤 반응계에서 메틸글루코시드 아크릴레이트를 합성한 Rethwisch[13]는 리파제촉매로 Novozym 435를 3.75%(w/v) 첨가하였다. 본 연구에서는 배당화제의 용해도 뿐 만이 아니라 효소활성도도 높기 때문에 효소첨가량은 5%으로도 충분하였다. 효소첨가량이 과량이 되면 효소가 생성물과도 착화합물을 형성하여 해리반응이 일어나고 효소비용이 증가하므로 배당화 메타크릴레이트 합성반응계의 최적 효소첨가량은 5%(w/v)이라고 판단되었다.

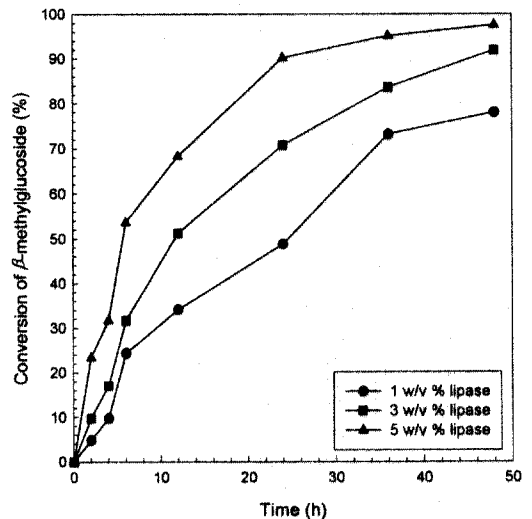


Fig. 2. Effect of enzyme content on conversion of β-methyl glucoside in lipase-catalyzed glycosylation of vinyl methacrylate.

3.3. 반응물의 몰비와 초기농도의 영향

효소적 합성공정은 화학적 합성공정에 비하여

은화한 조건하에서 반응이 이루어지므로 재료안정성이 높고 에너지비용이 적으며 기질특이성과 위치특이성을 활용하면 입체광학적으로 순수한 생성물만이 합성되므로 분리정제비용을 절감할 수 있어서 유망한 합성반응기술로 평가되고 있다. 그러나 효소촉매의 활성도는 화학촉매보다도 낮기 때문에 비교적 반응시간이 길고 생산성이 낮으므로, 가능한 한 반응물 농도를 높게 유지하여야 반응속도와 생산성이 증가하고 단위생산비용이 절감되며 효소적 합성공정의 경제성을 확보할 수 있다.

배당화반응이 진행되기 위해서는 리파제가 계면흡착에 의하여 비닐메타크릴레이트와 활성착화합물을 형성하고 메틸글루코시드가 효소의 활성점에서 비닐메타크릴레이트와 결합해야 하는데, 비닐메타크릴레이트와 메틸글루코시드의 농도를 가능한 한 높게 유지하여야 함으로 배당화 반응속도에 미치는 영향이 가장 큰 조업인자는 반응물 몰비와 배당화제의 초기농도이다. 메틸글루코시드에 의한 배당화반응은 2급탄소에 결합된 수산기보다는 1급 수산기의 배당화 반응성이 더 높아서 6번 탄소의 1급 수산기에서 이루어지고, 친수성이 강한 3급 부탄올은 메틸글루코시드의 6번 수산기를 리파제의 활성점으로 배향되도록 위치선택효과를 나타내기 때문에 6-모노메타크릴레이트만이 생성되었다[10]. 1급 수산기가 1개인 메틸글루코시드에 의한 배당화 반응의 이론 몰비는 1 : 1이어야 하지만 배당화 전환율과 반응속도를 높게 유지하고 배당화반응이 가역반응성임을 고려할 때에 이론몰비보다도 더 높은 몰비를 사용하였다. Fig. 3은 비닐메타크릴레이트를 메타크릴공여체로 사용하여 메틸글루코시드 초기농도 50g/l, 효소첨가량 5%, 반응온도 50℃에서 메틸글루코시드와 비닐메타크릴레이트의 몰비가 배당화반응의 전환율과 반응속도에 미치는 영향을 비교 분석한 것으로 몰비(MG : VMA)가 1 : 1에서 1 : 3으로 증가하면서 배당화 반응속도와 전환율이 2배이상 증가하였고, 몰비 1 : 3일때 22시간이내에 최종전환율이 100%에 도달하였다. 배당화반응의 전환율과 반응시간을 고려할 때에 메틸글루코시드와 비닐메타크릴레이트의 최적 몰비는 1 : 3임을 알 수 있었다. 최적 몰비 1 : 3 에서 메틸글루코시드의 초기농도가 높으면 반응속도와 생산성이 증가하고 단위생산비용이 절감됨으로 반응속도와 배당화 전환율에 미치는 메틸글루코시드 초

기농도의 영향을 검토하였다. Fig. 4는 메틸글루코시드와 비닐메타크릴레이트의 몰비가 1:3 일때, 효소첨가량 5%, 반응온도 50℃에서 메틸글루코시드 초기농도가 배당화반응의 전환율과 반응속도에 미치는 영향을 영향을 도시한 것으로 초기농도가 각각 30, 40, 50, 60, 100, 150g/l 일때 그 초기속도는 206, 618, 708, 824, 814, 837

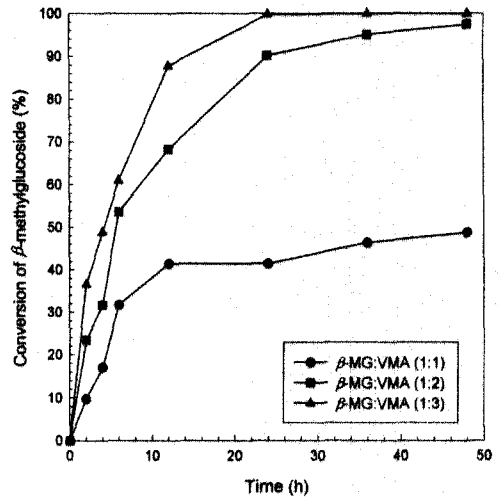


Fig. 3. Effect of molar ratio of β -methyl glucoside to vinyl methacrylate on lipase-catalyzed glycosylation.

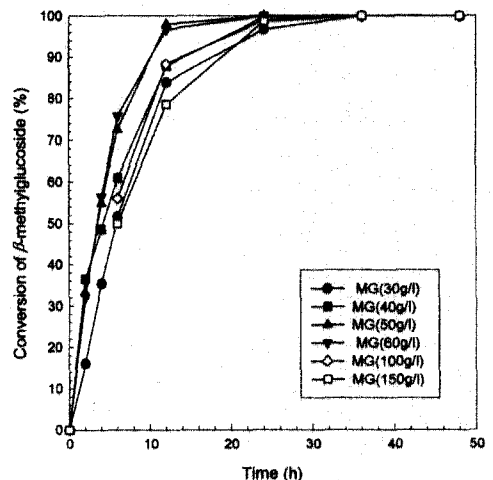


Fig. 4. Effect of initial concentration of β -methyl glucoside on lipase-catalyzed glycosylation of vinyl methacrylate.

$\mu\text{mol/l}\cdot\text{min}$ 로 60g/l 에서 최대속도에 도달하였으며 22시간 이내에 배당화반응이 거의 완결되었다. 본 연구에서 제시한 반응공정은 메틸글루코시드의 초기농도가 60g/l 이하이면 균일상이었으나 그 이상에서는 과포화되어 메틸글루코시드의 일부가 미세입자 형태로 존재하는 과포화 용매공정(supersaturated solvent proces)이 되었다. 과포화 용매공정은 메틸글루코시드의 초기농도를 용해도 이상으로 증가시킴으로써 반응속도가 항상 균일상 반응계의 최대속도인 $824\sim 837\ \mu\text{mol/l}\cdot\text{min}$ 로 유지되었고, 배당화공정의 생산성을 획기적으로 향상시킬 수 있었다.

3.4. 과포화 용매공정 (supersaturated solvent process)

일반적으로 효소반응공정은 용매 반응공정과 무용매 반응공정으로 구분되는데, 용매 반응공정의 경우에는 반응물의 혼화성과 상호용해도는 무용매 반응공정에 비하여 바람직하지만 비교적 높은 효소농도를 사용함에도 불구하고 반응속도와 수율이 낮고 분리정제비용이 큰 반면에, 무용매 반응공정의 경우에는 반응매질의 생체안전성 문제를 피할 수 있고 분리정제가 용이하지만 기질혼화성 과 상호용해도가 낮고 효소비용의 비중이 크다는 문제점이 지적되고 있다. 효율적인 효소적 생산공정이 제시되기 위해서는 효소촉매의 활성도가 충분히 높아서 화학적 합성공정과 경쟁할 수 있도록 생산성이 높아야 하고 분리정제가 용이하도록 전환율이 가능한 한 높아야 된다. 본 연구에서 제시한 과포화 용매 공정에서는 효소비용과 분리정제비용 및 생산성을 고려한 최적 반응조건을 설정하여 용매 반응공정과 무용매 반응공정의 문제점을 개선하였다. 메틸글루코시드를 배당화제로 사용하여 메틸글루코시드 초기농도 150g/l , 물비 1:3, 효소첨가량 5%, 반응온도 50°C 에서 비닐아크릴레이트와 비닐메타크릴레이트를 과포화 용매공정으로 배당화한 결과 22시간 이내에 배당화반응이 거의 완결되었다. Table 2에 나타낸 바와같이 배당화 아크릴레이트/메타크릴레이트는 배당화제의 종류에 따라서 자당계열, 글리코시드계열 및 다가알콜계열로 구분되는데, 자당계열을 합성하기 위해서는 자당의 용해도 때문에 피리딘과 같은 극성용매를 사용하고, 비교적 용해도가 큰 글리코시드의 경우에는 효소활성도와 생체안전성이 높은 비극성용매를 사용한다. 극성용매

는 비극성용매에 비하여 배당화제의 용해도는 높지만 효소활성도와 생체안전성이 낮기 때문에 비극성용매를 반응매질로 하는 글리코시드계열이 자당계열보다도 더 유망하다고 판단된다. Rethwisch[13]는 아세톤을 반응매질로 하는 비극성반응계에서 수분제거제로 제올라이트를 첨가하고 메틸글루코시드 초기농도 122g/l , 물비 1 : 2, Novozym 435 첨가량 3.75%, 반응온도 55°C 에서 의사고상효소반응(pseudo solid-phase enzyme reaction)으로 메틸글루코시드 아크릴레이트를 합성하였으나, 효소안정성이 문제점으로 지적되었다. 본 연구의 과포화 용매공정에서는 메틸글루코시드의 용해도가 60g/l 범위로 의사고상효소반응계보다 46배 높고, 미세입자 형태로 존재하는 메틸글루코시드가 수분을 흡착하기 때문에 제올라이트를 첨가할 필요가 없었으며, 리파제의 활성구조가 과포화된 메틸글루코시드의 수산기에 의하여 보호됨으로 효소의 불화성화[14]는 일어나지 않았다. 본 연구에서는 과포화 용매공정으로 효소활성도와 안정성 및 배당화 생산성을 획기적으로 향상시켰으며, 이 연구결과로부터 연구개발수준에 머물러 있는 효소반응기술이 화학적 합성기술과 경쟁할 수 있는 차세대 생산기술로 발전될 것으로 기대된다.

4. 결 론

의용공학적 특성과 재료공학적 특성이 요구되는 생체재료를 제조하기 위하여 비닐아크릴레이트와 비닐메타크릴레이트를 과포화 용매공정으로 배당화하여 메틸글루코시드 아크릴레이트와 메틸글루코시드 메타크릴레이트를 합성한 결과, 그 최적반응조건은 반응온도 50°C 에서 메틸글루코시드 초기농도 150g/l , 물비 1 : 3, 리파제첨가량 5%(w/v)이며, 배당화 아크릴레이트/메타크릴레이트는 복수의 수산기를 함유한 생체모방형 하이드로젤 소재로 활용할 수 있다. 본 연구의 과포화 용매공정은 용매 반응공정과 무용매 반응공정의 문제점을 개선하였고, 배당화제의 용해도, 효소활성도와 안전성 및 배당화 생산성을 획기적으로 향상시켰으며, 이 연구결과로부터 연구개발수준에 머물러 있는 효소반응기술이 화학적 합성기술과 경쟁할 수 있는 차세대 생산기술로 발전될 것으로 기대된다.

Table 2. The State-of-the Arts of Enzymatic Process for Glycosyl Methacrylate/Acrylate

process type	glycosyl agent	acyl donor	molar ratio	enzyme/content(%)	reaction medium/time(hr)	initial conc.(g/L)	reaction temp.(°C)	conversion (%)	remark
sugar-based	glucose	vinyl acrylate	1 : 3	<i>Pseudomonas</i> sp/10	phenyl boronic complex/ <i>t</i> -butanol/24	18	45	79	Klibanov & Ikeda[10]
	sucrose	vinyl acrylate	1 : 2	Otimase M-440/10	pyridine/72	50	20	87	Dordick et al.[5]
	sucrose	divinyl adipate	1 : 3	Opticlean M-375/2.5	pyridine/48	34.2	45	90	Dordick et al.[15]
	sucrose	vinyl acrylate	1:4	Otimase M-440/10	pyridine/24	342	30	90	Chang & Park[16]
	glucose	divinyl adipate	1 : 8	<i>Strep tomyses</i> sp/0.2-0.5	DMF/24	45	35	70	Tokiwa & Kitagawa [17]
glycoside-based	methyl galactoside	vinyl acrylate	1 : 2	Lipase P/13	pyridine/48	65	20	60	Rethwisch et al. [4]
	methyl glucoside	vinyl acrylate	1 : 2	Novozym 435/3.75	acetone/23	122	55	100	Li & Rethwisch [13]
	methyl fructoside	acrylic acid	1 : 3	Novozym 435/3	<i>t</i> -butanol/12	150	50	78	Kim[18]
	methyl fructoside	vinyl acrylate	1 : 2	Novozym 435/1	<i>t</i> -butanol/12	100	40	95	"
	methyl fructoside	vinyl methacrylate	1 : 2	Novozym 435/1	<i>t</i> -butanol/36	100	40	93	"
	methyl glucoside	vinyl acrylate	1 : 3	Novozym 435/5	<i>t</i> -butanol/22	150	50	100	present work
	methyl glucoside	vinyl methacrylate	1 : 3	Novozym 435/5	<i>t</i> -butanol/22	150	50	100	"
polyol-based	glycerol	vinyl acrylate	1 : 1	Novozym 435/1	<i>t</i> -butanol/12	50	50	81	Kim[18]
	glycerol	vinyl methacrylate	1 : 2	Novozym 435/1	<i>t</i> -butanol/12	50	40	90	"

참고문헌

- Q. Wang, J. S. Dordick, and R. J. Linhardt, *Chem. Mater.*, **14**, 3232 (2002).
- B. D. Martin, S. A. Ampofo, R. J. Linhardt, and J. S. Dordick, *Macromolecules*, **25**, 7081 (1992).
- A. S. Hoffman, *Advanced Drug Delivery Reviews*, **43**, 3 (2002).
- X. Chen, J. S. Dordick, and D. G. Rethwisch, *Macromolecules*, **28**, 6014 (1995).
- N. S. Patil, J. S. Dordick, and D. G. Rethwisch, *Biomaterials*, **17**, 2343 (1996).
- S. J. Novick and J. S. Dordick, *Chem. Mater.*, **10**, 955 (1998).
- X. Chen, B. D. Martin, T. K. Neubauer, R. J. Linhardt, J. S. Dordick, and D. G. Rethwisch, *Carbohydrate Polymers*, **28**, 15 (1995).

8. J. C. Salamone, "Polymeric Materials encyclopedia", vol.2, p.1504, M. F. Refojo, CRC Press, New York (1996).
9. J. S. Dordick, *Trends Biotechnol.*, **10**, 287 (1992).
10. I. Ikeda and M. Klibanov, *Biotechnol. & Bioengng.*, **42**, 788 (1993).
11. J. S. Dordick, D. G. Rethwisch, D. R. Patil, B. D. Martin, and R. J. Linhardt, U. S. Patent 5,854,030 (1998).
12. J. O. Rich, B. A. Bedell, and J. S. Dordick, *Biotechnol. & Bioengng.*, **45**, 426 (1995).
13. Y. Li and D. G. Rethwisch, *Biotechnol. & Bioengng.*, **79**, 15 (2002).
14. M. Matsumoto, K. Kido, and K. Kondo, *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, **70**, 188 (1997).
15. O. J. Park, D. Y. Kim, and J. S. Dordick, *Biotechnol. & Bioengng.*, **70**, 208 (2000).
16. H. G. Park and H. N. Chang, *Biotechnology Letters*, **22**, 39 (2000).
17. M. Kitagawa and Y. Tokiwa, *J. Carbohydrate Chemistry*, **17**, 893 (1998).
18. D. H. Park and H. S. Kim, *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **16**, 82 (2001).