

## 이온성액체의 미생물 · 생명화학공학에의 응용과 전망

하성호\*

한남대학교 나노생명화학공학과

Received : November 8, 2012 / Revised : November 24, 2012 / Accepted : November 25, 2012

**Applications and Prospects of Ionic Liquids in Microbiology and Biochemical Engineering.** Ha, Sung Ho\*. *Department of Chemical Engineering and Nano-Bio Technology, Hannam University, Daejeon 305-811, Korea*

Ionic liquids (ILs) have been widely recognized as environmentally benign solvents. Their unique properties, including negligible vapor pressure, non-flammability, a wide liquid range and their tunable physicochemical properties by proper selection of cations and anions, make them attractive green solvents in a variety of fields such as organic synthesis/catalysis, extraction/separation, and electrochemistry, amongst others. In this paper, the recent technological developments and their prospects in the application of ILs in microbiology and biochemical engineering, including enzymatic reactions, protein folding/refolding and biomass dissolution, are discussed.

**Keywords:** Ionic liquids, enzymatic reaction, protein folding/refolding, biomass

### 서론

지구 온난화, 폐기물 및 재사용 문제, 유해 화학물질에 대한 대응 등 다양한 환경제약에 직면해 있는 현실에서, 1980년대 초부터 선진국을 중심으로 고조되기 시작한 환경문제에 대한 관심은 이제 그 심각성이 단순한 관심의 차원을 넘어 범세계적으로 대비책을 함께 강구해야 하는 단계에 이르러 있다. 특히 대기오염의 심각성이 증가함에 따라, 전 세계적으로 화학 및 석유화학 공정에서 광범위하게 이용되고 있는 휘발성 유기화합물(VOCs)의 사용에 대한 규제가 강화되고 있으며 이를 대체하기 위한 그린미디어(green media) 기술이 요구되고 있다. 그린미디어 기술은 세계적으로 아직 초기단계에 있으며 이온성액체, 물, 초임계 유체, 액체고분자(liquid polymer), 용융시스템(melt system) 등이 차세대 청정용매로 촉망 받고 있다. 이 중에서 이온성액체는 용매를 사용하는 대부분의 산업에서 응용이 가능하고, 특히 바이오분야에서 고효율적이고 안전한 친환경 공정 개발을 선도할 것으로 기대되고 있다.

이온성액체(Ionic Liquids, ILs)는 소금과 같이 양이온과 음

이온의 이온결합으로 이루어진 염 화합물로서 100°C 이하의 비교적 낮은 온도에서 액체 상태로 존재하는 이온성 염이다[33, 37]. 이온성액체를 구성하는 대표적인 양이온으로는 디알킬이미다졸륨(dialkylimidazolium), 디알킬피리디늄(dialkylpyridinium), 디알킬피롤리디늄(dialkylpyrrolidinium), 4급 암모늄(quaternary ammonium), 4급 포스포늄(quaternary phosphonium) 등이 있으며, 음이온으로는  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{BF}_4^-$ ,  $\text{PF}_6^-$ ,  $\text{AlCl}_4^-$ ,  $\text{Al}_2\text{Cl}_7^-$ ,  $\text{CH}_3\text{CO}_2^-$ ,  $\text{CF}_3\text{SO}_3^-$  (trifluoromethanesulfonate, TfO),  $(\text{CF}_3\text{SO}_2)_2\text{N}^-$  (trifluoromethanesulfonylamide,  $\text{Tf}_2\text{N}$ ),  $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{CO}_2^-$  (L-lactate) 등이 있다(Fig. 1) [33, 37, 51].

이온성액체는 증기압이 영에 가까운 낮은 휘발성, 비폭발성, 고온에서도 안정적인 액체로 존재하는 높은 열적 안정성으로 인해 “청정용매(green solvents)”라 불리면서 친환경용매로 많은 관심을 받고 있다[42]. 특히, 이온성액체는 다양한 무기물, 유기물, 고분자 물질을 용해시킬 수 있고, 소수성, 용해도, 점도, 밀도 등의 물리화학적 특성을 쉽게 변화시킬 수 있어서 “디자이너용매(designer solvent)”로도 불린다[8]. 이론상으로  $10^{18}$ 가지 이상의 아주 다양한 이온성액체의 합성이 가능하여 다양한 목적을 위한 용매로서의 무한한 잠재력을 지니고 있다. 따라서 이온성액체는 기존의 유기용매가 지니지 못하는 다양한 특성을 나타낼 뿐 아니라 사용자의 목적에 맞는(Task-specific) 용매를 선택하고 합성할 수 있다는

#### \*Corresponding author

Tel: +82-42-629-8896, Fax: +82-42-629-8835  
E-mail: shha@hnu.kr

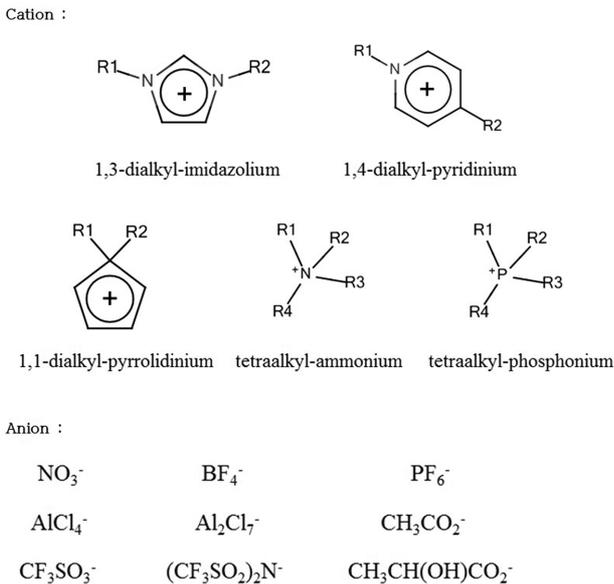


Fig. 1. Structures of some typical cations and anions in ionic liquids (ILs).

큰 장점을 지니고 있다.

현재까지 개발된 이온성액체의 주요 용도는 촉매, 전해질, 추출 및 분리, 연료 및 에너지 관련, 고분자 중합 관련으로 나뉘 볼 수 있으나, 그 적용 예는 매우 많아 이온성액체의 잠재시장은 거의 모든 유기용매 관련분야 및 촉매분야를 포함한다고 할 수 있다[15, 16, 33, 37, 46]. 최근에는, 대표적 지속가능한 기술인 생물공정에서의 이온성액체의 응용이 활발하게 진행되고 있다[32, 51, 57]. 따라서, 본고에서는 이온성액체의 독특한 성질을 이용한 최근의 미생물생명화학공학 응용공정을 효소반응, 단백질 재제법, 바이오매스 분야를 중심으로 알아보고 그 응용가능성을 검토하고자 한다.

### 효소반응에서의 이온성액체의 응용

일반적으로, 이온성액체를 이용한 생물반응공정은 세 종류로 분류할 수 있다. 이는 이온성액체 자체로서, 그리고 수용액상에서 보조 또는 공유 용매로서, 마지막으로 수용액과 이상계 또는 다상계 시스템을 이용하는 방법이다[21]. 이온성액체를 반응매질로 하여 생체촉매인 효소를 이용한 공정은 생물화학공정에 이온성액체가 가장 먼저 적용이 시도되어진 분야로, 그 연구가 다른 생물화학공정 분야에 비해 아직도 활발히 진행되고 있다. 모든 생명체는 생명현상을 유지하기 위해서 다양한 효소를 이용한다. 이러한 효소는 일반적으로 작동환경이 물이기 때문에, 물이 아닌 곳에서도 효소가 작용한다는 발견은 기존의 일반적인 상식을 바꾸는 계기가

되었다. 지난 20년간 물이 아닌 비수(nonaqueous) 용매에서의 효소반응에 대한 연구는 광범위한 분야에서 진행되었고, 그 중요성과 응용성은 학문적으로나 산업적으로 엄청난 파급효과를 불러일으켰다. 가장 많은 연구가 진행된 유기용매에서의 효소반응은 물에서의 효소반응에 비하여 산업적으로 다양한 장점이 있으나, 유기용매는 휘발성과 발화성이 높고 환경적으로 유해하여 이를 대체할 수 있는 용매를 찾고자 하는 노력이 진행되어왔다. 2000년에 들어서 본격적으로 연구되기 시작한 것이 환경친화성 용매인 이온성액체를 용매로 이용하는 비수계 효소반응이다. 특히, 이온성액체를 이용하면 유기용매를 이용했을 때의 다양한 장점을 지님과 동시에 더욱 우수한 효소의 반응성, 선택성, 안정성을 나타내는 것으로 보고되고 있다[32, 33, 51].

순수한 이온성액체에서의 효소반응에 대한 보고는 비교적 최근인 2000년 Russel 그룹에 의해서 이루어졌다[7]. 현재까지 보고된 이온성액체에서의 효소반응은 대부분 가수분해 효소를 이용하였으며, 그 중에서도 lipase를 가장 많이 이용하고 있다. 유기용매에서 효소반응을 진행하는 대표적인 효소인 lipase는 본래 물과 오일의 계면에서 오일을 가수분해하여 영양분으로 이용하는 기작을 가진다. 무수의 유기용매에서 lipase는 매우 안정적으로 존재하며 가수분해의 역반응인 에스테르화반응을 촉매하는 산업적으로 매우 유용한 효소이다. Sheldon 그룹은 무수의 이온성액체([Bmim][PF<sub>6</sub>]와 [Bmim][BF<sub>4</sub>])에서 lipase를 촉매로 이용한 반응을 처음으로 수행하여, *Candida antarctica* 유래 lipase (CALB)의 반응성이 일반적인 유기용매에서와 비슷하다는 것을 보고하였다[42]. Lipase를 이용하는 산업적으로 유용한 반응은 라세믹 화합물(racemate)의 광학분할이다. 여러 그룹들로부터 대표적인 라세믹 화합물들인 1-phenylethanol 유도체의 광학분할이 보고되고 있는데, 다양한 이온성액체에서 반응을 수행한 결과 기존의 유기용매에서의 반응에 비해 선택성과 반응성이 더 향상되었고, 효소의 안정성이 더 높게 유지되었다[4, 14, 41]. 아미노산 에스터의 광학분할에 있어서도 이온성액체를 이용하여 기존의 공정에 비하여 향상된 수율과 반응성을 얻을 수 있었다[61, 62]. 유기용매에서 lipase를 이용한 다양한 반응이 이온성액체에서도 가능하다는 것이 알려지고 있으며, 유기용매에서는 어려운 친수성 기질을 이용하는 당 에스터 합성과 같은 반응도 이온성액체에서 쉽게 수행될 수 있다는 것이 보고되고 있다[11, 12, 26]. 최근에는 [Emim][TfO]에서 CALB를 이용한 바이오디젤의 생산성이 기존의 바이오디젤 생산에 최적의 용매로 알려진 *tert*-BuOH에 비해 15% 이상 높다고 보고되고 있다[13]. Lipase 다음으로 많이 연구되고 있는 것은 단백질 분해 효소인 protease이다. Protease는 주로 이온성액체를 보조용매로 사용하는 반응에서 다양한 결과들이 보고되고 있다. Russel 그룹은

thermolysin을 이용하여 이온성액체에서 디펩티드(dipeptide)인 *Z*-aspartame을 생산하였는데, 일반적으로 이용되는 유기용매인 ethyl acetate에서의 반응과 비교시 반응성은 비슷하나 효소의 안정성이 매우 우수하다는 것을 보고하였다[7]. 이온성액체에서  $\alpha$ -chymotrypsin을 이용한 반응으로는 *N*-acetyl-L-amino acids ethyl ester의 트랜스에스테르화반응이 수행되었는데, 반응성은 유기용매에서와 비슷한 정도로 측정되었고, 생산물의 안정성은 유기용매에 비해 17배 정도 향상되어 수율이 증대되었다[29]. 그 외에 epoxide hydrolase,  $\beta$ -galactosidase 등의 가수분해 효소를 이용한 반응에서도 이온성액체를 사용하여 높은 수율과 반응성을 얻을 수 있었다 [3, 20]. 최근들어 무수 이온성액체에서 다양한 산화환원효소가 반응성을 나타낸다는 것이 보고되고 있으며, Khmelnsky 그룹은 무수의 [Bmim][PF<sub>6</sub>]에서도 laccase가 anthracene의 산화반응을 촉매화한다는 것을 보고하였다[17]. 하지만, 무수의 이온성액체에서 산화환원효소의 반응성은 매우 낮은 편이며, 주로 이온성액체와 물의 혼합물을 이용한 단일상이나 이상계에서의 반응이 보고되고 있다. Kragl 그룹은 [Bmim][Tf<sub>2</sub>N]과 물의 이상계에서 alcohol dehydrogenase를 이용하여 2-octanone의 광학선택적인 환원반응을 성공적으로 수행하였는데, 이온성액체의 특성에 의한 기질과 생성물의 적절한 분배가 기존의 유기용매보다 높은 반응 속도를 유도할 수 있었다[5]. 또한, *Candida boidinii* 유래의 formate dehydrogenase는 [Mmim][MeSO<sub>4</sub>]와 버퍼의 혼합물에서 매우 안정적으로 반응성을 나타낸다는 것이 보고되었다[18].

이상에서 살펴본 바와 같이 다양한 이온성액체가 효소반응에 이용되고 있는데, 최근까지 보고된 바에 따르면 이온성액체내의 수분활성(water activity), pH, 불순물 등과 같은 일반적 요인들 외에도 이온성액체의 특이적인 용매적 성질에서 기인하는 여러 요인들이 개별적 혹은 복합적으로 효소의 반응성과 안정성에 영향을 미친다고 알려져 있다[57, 60]. 대표적인 요인들로는 이온성액체의 극성, 구성하는 이온의 kosmotropicity에서 기인한 이온성액체의 Hofmeister series, 이온성액체의 점도, 소수성 정도, 음이온의 수소결합 염기도 및 친핵성도 등이 있다[51, 59, 60].

일반적으로 효소공정은 우수한 반응성과 선택성에도 불구하고, 효소의 높은 가격이 산업화의 가장 큰 걸림돌이다. 이를 극복하기 위해서는 안정성이 매우 우수한 효소의 개발이 필요하며, 일반적인 방법이 효소의 고정화이다. 그런데, 이온성액체가 반응매질로 이용될 때 효소의 안정성을 향상시킨다는 결과는 이온성액체의 또 다른 응용 가능성을 제시하게 되었다. 이온성액체를 효소 안정화를 위한 첨가제로 이용하는 방법으로, 녹는점이 53°C인 [PPmim][PF<sub>6</sub>]로 코팅한 lipase가 유기용매에서 native lipase에 비하여 높은 선택성과 안정성을 나타내는 것이 보고되었다[23]. 이와 유사한 방

법으로 셀룰로오스 필름에 laccase를 고정화할 때에 소수성 이온성액체로 효소를 먼저 코팅하여 안정성을 향상시킨 결과도 보고되어 있다[49]. 또 다른 방법으로는, 졸-겔(sol-gel) 방법으로 효소를 고정화할 경우 이온성액체를 첨가제로 사용하면 효소의 반응성과 안정성이 향상된다는 것이 최근 보고되어, 효소의 안정제로서의 이온성액체의 이용에 대한 관심이 또한 높아지고 있다[24, 25].

### 이온성액체를 이용한 단백질 재접힘

유전자 재조합 기술의 발달로 인해 미생물을 이용하여 산업적으로 유용한 단백질들을 효율적으로 대량생산하기 위한 많은 시도가 이루어지고 있다. 이러한 재조합 단백질을 생산하기 위해 이용되는 숙주로는 대장균, 효모, 동물세포, 곤충세포 등이 있는데, 그 중 대장균은 그 유전정보가 가장 잘 알려져 있고, 다양한 발현 벡터의 선택이 가능하며, 높은 발현 수준, 낮은 생산단가 등의 장점으로 인해 재조합 단백질 생산을 위한 숙주로 가장 널리 이용되고 있다. 그러나, 대장균을 이용하여 재조합 단백질을 과다 발현할 경우 대부분의 재조합 단백질이 단백질의 비활성형의 응집체인 내포체(inclusion body)로 흔히 발생된다. 그러므로, 이러한 내포체들은 재조합 단백질 생산 과정 중 재접힘이라는 추가적인 공정을 거쳐 단백질 본연의 올바른 3차 구조로 재접힘되어 활성을 가진 단백질로 회복할 수 있다. 일반적으로 이러한 재접힘공정은 변성제(denaturant)를 이용한 내포체의 풀림(unfolding) 단계와 단백질의 올바른 접힘 유도를 위한 변성제 제거 공정으로 구성된다. 변성제의 제거 방법에 따라 단순 희석, 단계적 희석, 유가식 희석, 투석, 겔 여과 크로마토그래피 등의 방법이 사용되고 있다. 희석식 재접힘 방법이 현재까지 가장 많이 사용되고 있는 방법이지만, 매우 저농도의 단백질 농도에서만 적용 가능하여 그 수율이 낮고, 공정에서 처리해야 하는 부피가 매우 크기 때문에 재접힘공정 후에 농축공정을 추가로 필요하여 재조합 단백질의 생산 및 정제비용이 높다는 점 및 무작위적인 이황화결합이 발생할 수 있다는 점 등이 단점으로 지적되고 있다. 이러한 단점을 극복하고 고농도, 고효율 재접힘을 달성하기 위하여 최근들어 이온성액체를 활용한 연구가 보고되고 있다[22]. 단백질 재접힘을 위한 재접힘 버퍼로서 요소가 포함된 재접힘을 위한 재접힘 버퍼 중에 이온성액체인 질산 에틸암모늄(ethylammonium nitrate)을 첨가제로 사용하여 변성된 단백질의 응집을 방지함으로써 라이소자임의 재접힘 효율이 90%까지 향상된 보고가 있다[44]. 최근에는 단백질 3차구조 내 이황화결합을 포함하는 라이소자임의 재접힘에 있어 구성하는 이온내에 황이 포함되어 있는 이온성액체를 적용하여, 변성된 단백질의 내포체 형성을 방지함으로써 희석법에 의하여 거의

100%에 가까운 재접힘 효율을 이룰 수 있다고 보고되었다[1].

## 이온성액체를 이용한 바이오매스의 용해 및 활용 기술

이온성액체는 이온으로 이루어져 있어서 구조에 따라 친수성, 소수성을 조절할 수 있을 뿐만 아니라, 종류에 따라 유기물, 무기물, 그리고 금속에 대해 좋은 용해도를 가지고 있다. 이러한 이온성액체의 뛰어난 용해성질을 이용한 분야가 최근 각광받는 바이오매스의 용해 및 활용기술이다. 자연계에 존재하는 바이오매스는 대부분 매우 복잡한 키랄성 화합물로 일반적인 유기용매에 거의 용해되지 않기 때문에 화학적으로 변형하는 것이 매우 어렵다. 단지 몇 가지의 바이오매스만이 물, pyridine, formamide, DMF, DMSO 등의 극성 용매에 용해되어 화학적으로 변형할 수 있으므로 바이오매스를 효과적으로 용해시킬 수 있는 용매 시스템이 필요하다[6, 35, 36]. 최근 Rogers 그룹이 이미다졸륨계의 이온성액체를 이용하여 셀룰로오스를 효과적으로 용해시킬 수 있다는 것을 보고한 이후 다양한 바이오매스를 용해시킬 수 있다는 것이 보고되면서, 이온성액체를 이용하여 바이오매스로부터 화합물이나 연료를 생산하는 응용기술 및 바이오매스 기반의 여러 가지 복합소재 개발하고자 하는 노력이 활발하게 진행되고 있다[46, 47].

목질계 바이오매스는 바이오에너지를 얻기 위한 중요한 자원으로 인식되고 있는데, 최근들어 이온성액체를 이용하여 목질계 바이오매스를 전처리한 후 이를 효율적으로 발효하여 바이오에너지를 얻는 바이오리파이너리 공정이 많이 개발되고 있다[34, 48]. 지난 2002년, Rogers 그룹은 1-alkyl-3-methylimidazolium 양이온과 halides 음이온을 가지는 이온성액체를 이용하여 셀룰로오스를 효과적으로 용해/재생할 수 있음을 발표하였다[46]. 셀룰로오스의 용해도는 이온성액체의 음이온에 따라 큰 차이가 있었으며, [Bmim][Cl]에 약 25 wt% 정도의 셀룰로오스를 용해시킬 수 있었다. 또한, 이온성액체에 용해시킨 셀룰로오스는 물, 에탄올, 아세톤 등의 반용매(anti-solvent)를 이용하여 셀룰로오스를 다시 재구성하는 것이 가능하다는 것을 보여주었다. 이러한 결과는 셀룰로오스 기반의 복합소재 개발의 가능성을 열었다. 그 이후 여러 연구자들의 연구결과에 의하면 acetate, formate, methylphosphate, dicyanamide 등의 음이온을 가지는 이온성액체들이 셀룰로오스를 잘 용해시킬 수 있다는 것이 보고되고 있다[2, 9, 10, 19, 28, 63]. 한편, [Bmim][Cl], [Emim][Ac] 등의 이온성액체를 이용하면 순수한 셀룰로오스 뿐만 아니라 헤미셀룰로오스와 리그닌을 함유하고 있는 여러 종류의 목질계 바이오매스들을 용해시킬 수 있다는 것이 보고되고 있다[27, 45].

이온성액체를 이용한 셀룰로오스의 용해에 대한 연구가 발표된 후, 이온성액체를 이용한 키틴의 용해도 시도되고 있다. 당연하겠지만, 키틴이 이온성액체에 용해되는 정도는 키틴의 분자량과 아세틸화 정도에 크게 의존한다. 키틴은 [Bmim][Cl]에서 약 10% 가량 녹을 수 있지만, 용해된 이후에도 어느 정도 결정도를 유지한다고 보고되고 있으며, 최근에는 [Bmim][Ac]가 키틴을 효과적으로 용해시킬 수 있다는 것이 보고되었다[54, 55]. 키틴이 탈아세틸화된 형태인 키토산은 [Amim][Cl], [Bmim][Cl], [Bmim][Ac] 등의 이온성액체에 잘 용해되는 것으로 보고되고 있다[30, 31, 53].

최근들어 미세조류 및 해조류와 같은 바이오매스 뿐만 아니라 다양한 실크 단백질, 콜라겐, 엘라스틴, 젤라틴 등과 같은 바이오폴리머들을 이온성액체에 용해시키는 연구들 또한 활발하게 진행되고 있다[38, 39, 43, 56, 58]. 실크는 [Emim][Cl], [Bmim][Cl], [Bdmim][Cl] 등의 이온성액체에 잘 용해된다는 것이 보고되고 있다[38]. 미세조류인 클로렐라를 [Emim][Cl]에 용해시킨 후 가수분해를 통해 높은 수율로 발효성 당으로 전환시킨 연구가 최근에 보고된 바 있다[64]. 한편, 미세조류인 클로렐라는 높은 지방산 생산성으로 인해 바이오디젤 생산균주로 많이 이용되고 있는데, 클로렐라 내에 축적되어 있는 지방산을 효율적인 추출하기 위해 [MeSO<sub>2</sub>] 음이온을 갖는 이온성액체를 이용한 분리/추출연구가 최근 보고되었다[58].

이온성액체가 상기와 같이 다양한 바이오매스들을 효과적으로 용해하고, 반응매를 이용한 재생을 통해 바이오매스를 재구성할 수 있다는 특성을 이용하여, 최근들어 필름, 코팅소재, 막, 섬유 등의 다양한 복합소재의 개발도 활발히 진행되고 있다[52]. 그 중에서 셀룰로오스 섬유는 생체적합성과 생분해성이 뛰어나고 재생가능하다는 장점으로 가장 널리 이용되는 바이오폴리머 기반의 섬유이다. 이온성액체로의 셀룰로오스의 용해를 통한 셀룰로오스 섬유 제조는 현재 독일의 BASF사가 세계시장 선점을 위하여 원천기술 확보를 통한 상용 제조에 주력하고 있는데, 이온성액체의 화학적 물성에 의해 완벽한 재활용이 가능하다는 판단에 의해 공정비용 절감이 가능하다는 매력이 BASF사에 큰 영향을 미친 것으로 알려져 있다. Rogers 그룹은 [Bmim][Cl]을 이용한 셀룰로오스 막으로의 laccase의 고정화, 셀룰로오스/폴리아민 필름과 비드(bead)를 이용한 lipase의 고정화 등과 같이 이온성액체를 이용한 셀룰로오스 기반의 소재를 개발하였고, 최근에는 [Bmim][Cl]에 셀룰로오스와 1-(2-pyridylazo)-2-naphthol을 같이 용해시켜서 물로 재구성하여 Hg<sup>2+</sup>에 대한 센서 플랫폼을 개발하였다[40, 49, 50]. 이온성액체가 바이오매스의 주성분인 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스, 리그닌 모두를 동시에 잘 용해시킬 수 있는 훌륭한 용매라는 것을 기반으로, Dordick 그룹은 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스, 리그닌을

[Emim][Ac]에 5:3:2의 비율로 용해시킨 다음 물 또는 에탄올을 이용하여 응고시켜서 합성 목재(synthetic wood)라는 필름을 생성하고, 이를 코팅소재로의 개발 가능성을 보여주었다[43].

## 결론 및 전망

이온성액체 응용기술은 향후 지속가능 기술(sustainable technology) 시대에 있어 유기합성, 전기화학, 화학공학, 분리공정 등을 포함하는 여러 분야에서 엄청난 파급효과가 있을 것으로 기대되어, 유럽, 일본, 미국 등의 기술 선도 국가들에서 다양한 분야에 걸쳐 이온성액체의 활용에 대한 활발한 연구 및 산업적 응용이 진행되고 있다. 또한, 이온성액체는 환경친화적인 용매의 요구에 적합한 모든 특징을 가지고 있어서 관심이 증대되고 있으며, 기존의 유기용매가 지니지 못하는 다양한 특성을 지님과 동시에 무한한 응용 가능 분야가 개발되고 있기 때문에 향후 전망은 매우 밝을 것으로 기대된다. 특히, 대표적 지속가능한 기술인 생물공정에서의 이온성액체의 응용은 기존의 생물공정에서 부득이하게 사용하고 있는 환경 오염물질인 유기용매를 사용하지 않는 것 외에 생촉매의 반응성, 선택성, 안정성을 향상시킬 수 있다는 장점을 가지고 있다. 또한, 이온성액체가 다양한 바이오매스를 용해시킬 수 있다는 것이 알려지면서 바이오매스를 이온성액체에 용해하여 재구성하는 전처리공정을 거친 후 효율적으로 발효하여 바이오에너지를 얻는 바이오리파이너리 공정이 활발히 개발되고 있는데, 그 이외에도 이온성액체를 적용하여 제작된 다양한 바이오매스 기반의 소재들을 응용한 생체이식 가능 장비, 바이오센서, 생물연료전지 등의 생의학 분야에서도 다양한 목적으로 이용될 수 있을 것으로 기대된다. 이온성액체가 미생물생명화학공학 분야에서 이용되기 위해서는 이온성액체의 높은 가격, 아직 검증되지 않은 이온성액체의 독성 등을 포함한 여러 가지 극복해야 할 점들이 있지만, 이온성액체 응용 기술은 현재까지 미생물생명화학공정이 가지고 있었던 여러 가지 문제점들을 해결할 수 있는 또 하나의 대안으로, 생물화학공정의 산업적 가치를 높이는 핵심기술로서 고부가가치 생명공학물질의 생산이 가능할 것으로 기대된다.

## 요약

비휘발성, 비폭발성, 열적 안정성의 특성을 가지고 있는 이온성액체는 환경친화적인 용매이고, 또한 양이온과 음이온의 다양한 조합을 통해 사용 목적에 부합하는 이온성액체를 용이하게 합성할 수 있어 용매로서의 다양성으로 인해 청정 용매, 촉매, 추출 및 분리, 전해질 등의 분야에서 다양하게

응용되고 있다. 이에 본 논문에서는 이온성액체에 대한 기본 지식과 함께 현재 미생물생명화학공학에서 이온성액체가 용매로서 효과적으로 응용되고 있는 효소반응 분야, 단백질 재접힘 분야, 바이오매스 용해 및 활용분야에서의 최근 연구동향을 기술하였다.

## Acknowledgments

This work was supported by 2012 Hannam University Research Fund.

## References

1. Bae, S. -W., W. -J. Chang, Y. -M. Koo, and S. H. Ha. 2012. Enhanced refolding of lysozyme with imidazolium-based room temperature ionic liquids: Effect of hydrophobicity and sulfur residue. *Sci. China Chem.* **55**: 1657-1662.
2. Barthel, S. and T. Heinze. 2006. Acylation and carbanilation of cellulose in ionic liquids. *Green Chem.* **8**: 301-306.
3. Chiappe, C., E. Leandri, S. Lucchesi, and D. Pieraccini. 2004. Biocatalysis in ionic liquids: The stereoconvergent hydrolysis of *trans*- $\beta$ -methylstyrene oxide catalyzed by soluble epoxide hydrolase. *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **27**: 243-248.
4. Eckstein, M., P. Wasserscheid, and U. Kragl. 2002. Enhanced enantioselectivity of lipase from *Pseudomonas* sp. at high temperatures and fixed water activity in the ionic liquid 1-Butyl-3-methylimidazolium Bis[(trifluoromethyl)sulfonyl] amide. *Biotechnol. Lett.* **24**: 763-767.
5. Eckstein, M., M. V. Filho, A. Liese, and U. Kragl. 2004. Use of an ionic liquid in a two-phase system to improve an alcohol dehydrogenase catalysed reduction. *Chem. Commun.* 1084-1085.
6. El Sound, O. A., A. Koschella, L. C. Fidale, S. Dorn, and T. Heinze. 2007. Applications of ionic liquids in carbohydrate chemistry: A window of opportunities. *Biomacromol.* **8**: 2629-2647.
7. Erbedinger, M., A. J. Mesiano, and A. J. Russel. 2000. Enzymatic catalysis of formation of Z-aspartame in ionic liquid- an alternative to enzymatic catalysis in organic solvents. *Biotechnol. Prog.* **16**: 1129-1131.
8. Freemantle, M. 1998. Designer solvents - Ionic liquids may boost clean technology development. *Chem. Eng. News* **76**: 32-37.
9. Fukaya, Y., A. Sugimoto, and H. Ohno. 2006. Superior solubility of polysaccharides in low viscosity, polar and halogen-free 1,3-dialkylimidazolium formates. *Biomacromol.* **7**: 3295-3297.
10. Fukaya, Y., K. Hayashi, M. Wada, and H. Ohno. 2008. Cellulose dissolution with polar ionic liquids under mild conditions. *Green Chem.* **10**: 44-46.
11. Ganske, F. and U. T. Bornscheuer. 2005. Lipase-catalyzed glucose fatty acid ester synthesis in ionic liquids. *Org. Lett.* **7**:

- 3097-3098.
12. Ganske F. and U. T. Bornscheuer. 2005. Optimization of lipase-catalyzed glucose fatty acid ester synthesis in a two-phase system containing ionic liquids and t-BuOH. *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **36**: 40-42.
  13. Ha, S. H., M. N. Lan, S. H. Lee, S. M. Hwang, and Y. -M. Koo. 2007. Lipase-catalyzed biodiesel production from soybean oil in ionic liquids. *Enzym. Microb. Technol.* **41**: 480-483.
  14. Ha, S. H., S. H. Lee, D. T. Dang, M. S. Kwon, W. -J. Chang, Y. J. Yu, I. S. Byun, and Y. -M. Koo. 2008. Enhanced stability of *Candida antarctica* lipase B in ionic liquids. *Korean J. Chem. Eng.* **25**: 291-294.
  15. Ha, S. H., R. N. Menchavez, and Y. -M. Koo. 2010. Reprocessing of spent nuclear waste using ionic liquids. *Korean J. Chem. Eng.* **27**: 1360-1365.
  16. Ha, S. H., N. L. Mai, and Y. -M. Koo. 2010. Butanol recovery from aqueous solution into ionic liquids by liquid-liquid extraction. *Process Biochem.* **45**: 1899-1903.
  17. Hinckley, G., V. V. Mozhaev, C. Budde, and Y. L. Khmel'nitsky. 2002. Oxidative enzymes possess catalytic activity in systems with ionic liquids. *Biotechnol. Lett.* **24**: 2083-2087.
  18. Kaftzik, N., P. Wasserscheid, and U. Kragl. 2002. Use of ionic liquids to increase the yield and enzyme stability in the  $\beta$ -galactosidase catalyzed synthesis of *N*-acetylglucosamine. *Organ. Proc. Res. Dev.* **6**: 553-557.
  19. Kosan, B., C. Mitchels, and F. Meister. 2008. Dissolution and forming of cellulose with ionic liquids. *Cellulose* **15**: 59-66.
  20. Kragl, U., N. Kaftzik, S. H. Schfer, M. Eckstein, P. Wasserscheid, and C. Hilgers. 2001. Enzyme catalysis in the presence of ionic liquids. *Chem. Today* **19**: 22.
  21. Kragl, U., M. Eckstein, and N. Kaftzik. 2002. Enzyme catalysis in ionic liquids. *Curr. Opin. Biotechnol.* **13**: 565-571.
  22. Lange, C., G. Patil, and R. Rudolph. 2005. Ionic liquids as re-folding additives: *N*'-alkyl and *N*'-(www-hydroxyalkyl) *N*-methylimidazolium chlorides. *Protein Sci.* **14**: 2693-2701.
  23. Lee, J. K. and M. -J. Kim. 2002. Ionic liquid-coated enzyme for biocatalysis in organic solvent. *J. Org. Chem.* **67**: 6845-6847.
  24. Lee, S. H., T. T. N. Doan, S. H. Ha, and Y. -M. Koo. 2007. Using ionic liquids to stabilize lipase within sol-gel derived silica. *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **45**: 57-61.
  25. Lee, S. H., T. T. N. Doan, S. H. Ha, W. -J. Chang, and Y. -M. Koo. 2007. Influence of ionic liquids as additives on sol-gel immobilized lipase. *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **47**: 129-134.
  26. Lee, S. H., D. T. Dang, S. H. Ha, W. -J. Chang, and Y. -M. Koo. 2008. Lipase-catalyzed synthesis of fatty acid sugar ester using extremely supersaturated sugar solution in ionic liquids. *Biotechnol. Bioeng.* **99**: 1-8.
  27. Lee, S. H., T. V. Doherty, R. J. Linhardt, and J. S. Dordick. 2009. Ionic liquid-mediated selective extraction of lignin from wood leading to enhanced enzymatic cellulose hydrolysis. *Biotechnol. Bioeng.* **102**: 1368-1376.
  28. Liebert, T. and T. Heinze. 2008. Interactions of ionic liquids with polysaccharides. 5. Solvents and reaction media for the modification of cellulose. *Biores.* **3**: 576-601.
  29. Lozano, P., T. de Diego, J. P. Guegan, M. Vaultier, and J. L. Iborra. 2001. Stabilization of  $\alpha$ -chymotrypsin by ionic liquids in transesterification reactions. *Biotechnol. Bioeng.* **75**: 563-569.
  30. Lu, X., J. Hu, X. Yao, Z. Wang, and J. Li. 2006. Composite system based on chitosan and room-temperature ionic liquid: Direct electrochemistry and electrocatalysis of hemoglobin. *Biomacromol.* **7**: 975-980.
  31. Lu, X., Q. Zhang, L. Zhang, and J. Li. 2006. Direct electron-transfer of horseradish peroxidase and its biosensor based on chitosan and room temperature ionic liquid. *Electrochem. Commun.* **8**: 874-878.
  32. Moniruzzaman, M., N. Kamiya, and N. Goto. 2010. Activation and stabilization of enzymes in ionic liquids. *Org. Biomol. Chem.* **8**: 2887-2899.
  33. Moon, Y. H., S. M. Lee, S. H. Ha, and Y. -M. Koo. 2006. Enzyme-catalyzed reactions in ionic liquids. *Korean J. Chem. Eng.* **23**: 247-263.
  34. Mora-Pale, M., L. Meli, T. V. Doherty, R. J. Linhardt, and J. S. Dordick. 2011. Room temperature ionic liquids as emerging solvents for the pretreatment of lignocellulosic biomass. *Biotechnol. Bioeng.* **108**: 1229-1245.
  35. Murugesan, S. and R. J. Linhardt. 2005. Ionic liquids in carbohydrate chemistry - Current trends and future directions. *Curr. Org. Synth.* **2**: 437-451.
  36. Oliveira, G. B., L. B. Carvalho, and M. P. C. Silva. 2003. Properties of carbodiimide treated heparin. *Biomaterials* **24**: 4777-4783.
  37. Parvulescu, V. I. and C. Hardacre. 2007. Catalysis in ionic liquids. *Chem. Rev.* **107**: 2615-2665.
  38. Phillips, D. M., L. F. Drummy, D. G. Conrady, D. M. Fox, R. R. Naik, M. O. Stone, P. C. Trulove, H. C. De Long, and R. A. Mantz. 2004. Dissolution and regeneration of *Bombyx mori* silk fibroin using ionic liquids. *J. Am. Chem. Soc.* **126**: 14350-14351.
  39. Phillips, D. M., L. F. Drummy, R. R. Naik, H. C. De Long, D. M. Fox, P. C. Trulove, and R. A. Mantz. 2005. Regenerated silk fiber wet spinning from an ionic liquid solution. *J. Mater. Chem.* **15**: 4206-4208.
  40. Poplin, J. H. R. P. Swatloski, J. D. Holbrey, S. K. Spear, A. Metlen, M. Grtzel, M. K. Nazeeruddin, and R. D. Rogers. 2007. Sensor technologies based on a cellulose supported platform. *Chem. Commun.* 2025-2027.
  41. Schfer, S. H., N. Kaftzik, P. Wasserscheid, and U. Kragl. 2001. Enzyme Catalysis in ionic liquids: Lipase-catalyzed kinetic resolution of 1-phenylethanol with improved enantioselectivity. *Chem. Commun.* 425-426.
  42. Sheldon, R. A., R. M. Lau, M. J. Sorgedraeger, and F. van Rantwijk. 2002. Biocatalysis in ionic liquids. *Green Chem.* **4**: 147-151.
  43. Simmons, T. J., S. H. Lee, J. Miao, M. Miyauchi, T. -J. Park, S. S. Bale, R. Pangule, J. Bult, J. G. Martin, J. S. Dordick, and R. J. Linhardt. 2011. Preparation of synthetic wood composites

- using ionic liquids. *Wood Sci. Technol.* **45**: 719-733.
44. Summers, C. A. and R. A. Flowers. 2000. Protein renaturation by the liquid organic salt ethylammonium nitrate. *Protein Sci.* **9**: 2001-2008.
45. Sun N., M., Rahman, Y. Qin, M. L. Maxim, H. Rodriguez, and R. D. Rogers. 2009. Complete dissolution and partial delignification of wood in the ionic liquid 1-ethyl-3-methylimidazolium acetate. *Green Chem.* **11**: 646-655.
46. Swatoski, R. P., S. K. Spear, J. D. Holbrey, and R. D. Rogers. 2002. Dissolution of cellulose with ionic liquids. *J. Am. Chem. Soc.* **124**: 4974-4975.
47. Tan, S. S. and D. R. MacFarlane. 2010. Ionic liquids in biomass processing. *Top. Curr. Chem.* **290**: 311-339.
48. Tadesse, H. and R. Luque. 2011. Advances on biomass pretreatment using ionic liquids: An overview. *Energy Environ. Sci.* **4**: 3913-3929.
49. Turner, M. B., S. K. Spear, J. D. Holbrey, and R. D. Rogers. 2004. Production of bioactive cellulose films reconstituted from ionic liquids. *Biomacromol.* **5**: 1379-1384.
50. Turner, M. B., S. K. Spear, J. D. Holbrey, D. T. Daly, and R. D. Rogers. 2005. Ionic liquid-reconstituted cellulose composites as solid support matrices for biocatalyst immobilization. *Biomacromol.* **6**: 2497-2502.
51. van Rantwijk, F. and R. A. Sheldon. 2007. Biocatalysis in ionic liquids. *Chem. Rev.* **107**: 2757-2785.
52. Viswanathan, G., S. Murugesan, V. Pushparaj, O. Nalamasu, P. M. Ajayan, and R. J. Linhardt. 2006. Preparation of biopolymer fibers by electrospinning from room temperature ionic liquids. *Biomacromol.* **7**: 415-418.
53. Wang, Q., H. Tang, Q. Xie, L. Tan, Y. Zhang, B. Li, and S. Yao. 2007. Room-temperature ionic liquids/multi-walled carbon nanotubes/chitosan composite electrode for electrochemical analysis of NADH. *Electrochim. Acta.* **52**: 6630-6637.
54. Wu, Y., T. Sasaki, S. Irie, and K. Sakurai. 2008. A novel biomass-ionic liquid platform for the utilization of native chitin. *Polymer* **49**: 2321-2327.
55. Xie, H. B., S. B. Zhang, and S. H. Li. 2006. Chitin and chitosan dissolved in ionic liquids as reversible sorbents of CO<sub>2</sub>. *Green Chem.* **8**: 630-633.
56. Yan, R., F. Zhao, J. Li, F. Xiao, S. Fan, and B. Zeng. 2007. Direct electrochemistry of horseradish peroxidase in gelatin-hydrophobic ionic liquid gel films. *Electrochim. Acta.* **52**: 7425-7431.
57. Yang, Z. and W. Pan. 2005. Ionic liquids: Green solvents for nonaqueous biocatalysis. *Enzym. Microb. Technol.* **37**: 19-28.
58. Young, G., F. Nippgen, S. Titterbrandt, and M. J. Cooney. 2010. Lipid extraction from biomass using co-solvent mixtures of ionic liquids and polar covalent molecules. *Sep. Purif. Technol.* **72**: 118-121.
59. Zhao, H. 2006. Are ionic liquids kosmotropic or chaotropic? An evaluation of available thermodynamic parameters for quantifying the ion kosmotropicity of ionic liquids. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **81**: 877-891.
60. Zhao, H. 2010. Methods for stabilizing and activating enzymes in ionic liquids - a review. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **85**: 891-907.
61. Zhao, H. and S. V. Malhotra. 2002. Enzymatic resolution of amino acid esters using ionic liquid *N*-ethylpyridinium trifluoroacetate. *Biotechnol. Lett.* **24**: 1257-1260.
62. Zhao, H., R. G. Luo, and S. V. Malhotra. 2003. Kinetic study on the enzymatic resolution of homophenylalanine ester using ionic liquids. *Biotechnol. Prog.* **19**: 1016-1018.
63. Zhao, H., G. A. Baker, Z. Y. Song, O. Olubajo, T. Crittle, and D. Peter. 2008. Designing enzyme-compatible ionic liquids that can dissolve carbohydrates. *Green Chem.* **10**: 696-705.
64. Zhou, N., Y. Zhang, X. Gong, Q. Wang, and Y. Ma. 2012. Ionic liquids-based hydrolysis of *Chlorella* biomass for fermentable sugars. *Bioresour. Technol.* **118**: 512-517.