



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2012년07월19일
(11) 등록번호 10-1163964
(24) 등록일자 2012년07월02일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07F 3/06 (2006.01) C07D 233/24 (2006.01)
B01J 31/12 (2006.01) C01B 31/24 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2012-0014270
(22) 출원일자 2012년02월13일
심사청구일자 2012년02월13일
(56) 선행기술조사문헌
Milan Remko et al. Amino Acids, 2010, Volume
39, Number 5, 1309-1319
Sergio E. Wong et al., Energy Procedia,
Volume 4, 2011, Pages 817-823, 10th
International Conference on Greenhouse Gas
Control Technologies
JP1991038553 A
KR1020110087273 A

(73) 특허권자
한국지질자원연구원
대전광역시 유성구 과학로 124 (가정동)
(72) 발명자
이승우
대전광역시 중구 태평동 삼부아파트 410-82
사후 프라카쉬 찬드라
대전광역시 유성구 가정동 30
장영남
대전광역시 유성구 도룡동 현대 APT 102-801
(74) 대리인
특허법인무한

전체 청구항 수 : 총 6 항

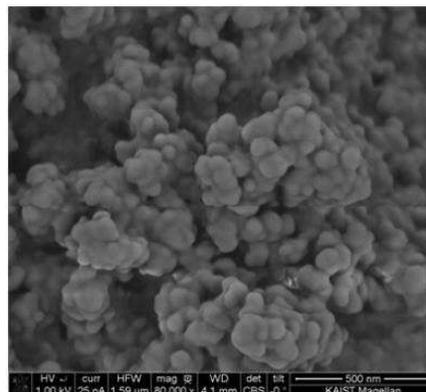
심사관 : 김수미

(54) 발명의 명칭 **아연-히스티딘 복합체 제조방법 및 그 제조방법으로 제조된 아연-히스티딘 복합체**

(57) 요약

본 발명은 이산화탄소를 중탄산이온으로 전환하는 반응을 활성화하는 아연-히스티딘 복합체의 제조방법과 상기 방법으로 제조된 아연-히스티딘 복합체 및 이를 이용한 이산화탄소 저감방법에 관한 것으로서, 본 발명의 아연-히스티딘 복합체 제조방법은, (a) 히스티딘 (Histidine) 수용액과 글루타르알데히드 (glutaraldehyde) 수용액을 혼합하여 제1 혼합 용액을 형성하는 단계; (b) 상기 제1 혼합 용액에 초산 아연 (zinc acetate) 수용액을 혼합하여 아연-히스티딘 복합체 입자를 포함하는 제2 혼합 용액을 형성하는 단계; 및 (c) 상기 제2 혼합 용액으로부터 상기 아연-히스티딘 복합체 입자를 분리하는 단계를 포함하는 것이다.

대표도 - 도1



특허청구의 범위

청구항 1

- (a) 히스티딘 수용액과 글루타르알데히드 수용액을 혼합하여 제1 혼합 용액을 형성하는 단계;
 - (b) 상기 제1 혼합 용액에 초산 아연 수용액을 혼합하여 아연-히스티딘 복합체 $[(\text{His})_m\text{Zn}^{2+}(\text{H}_2\text{O})_n]$ ($m=1,2,3, n=0,1,2$) 입자를 포함하는 제2 혼합 용액을 형성하는 단계; 및
 - (c) 상기 제2 혼합 용액으로부터 상기 아연-히스티딘 복합체 $[(\text{His})_m\text{Zn}^{2+}(\text{H}_2\text{O})_n]$ ($m=1,2,3, n=0,1,2$) 입자를 분리하는 단계
- 를 포함하는 아연-히스티딘 복합체 $[(\text{His})_m\text{Zn}^{2+}(\text{H}_2\text{O})_n]$ ($m=1,2,3, n=0,1,2$) 제조방법.

청구항 2

- 제1항에 있어서, 상기 단계 (a) 이후에,
- (a') 상기 제1 혼합 용액을 농축하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 아연-히스티딘 복합체 $[(\text{His})_m\text{Zn}^{2+}(\text{H}_2\text{O})_n]$ ($m=1,2,3, n=0,1,2$) 제조방법.

청구항 3

- 제2항에 있어서, 상기 단계 (a')은 25 내지 70 °C에서 30 분 내지 10 시간 동안 수행하는 것을 특징으로 하는 아연-히스티딘 복합체 $[(\text{His})_m\text{Zn}^{2+}(\text{H}_2\text{O})_n]$ ($m=1,2,3, n=0,1,2$) 제조방법.

청구항 4

- 제1항에 있어서, 상기 히스티딘 수용액의 농도는 0.01 내지 1 M이고, 상기 글루타르알데히드 수용액의 농도는 0.01 내지 1 M인 것을 특징으로 하는 아연-히스티딘 복합체 $[(\text{His})_m\text{Zn}^{2+}(\text{H}_2\text{O})_n]$ ($m=1,2,3, n=0,1,2$) 제조방법.

청구항 5

- 제1항에 있어서, 상기 초산 아연 수용액의 농도는 0.01 내지 1 M인 것을 특징으로 하는 아연-히스티딘 복합체 $[(\text{His})_m\text{Zn}^{2+}(\text{H}_2\text{O})_n]$ ($m=1,2,3, n=0,1,2$) 제조방법.

청구항 6

- 제1항에 있어서, 상기 단계 (b)는 20 내지 70 °C에서 30 분 내지 5 시간 동안 수행하는 것을 특징으로 하는 아연-히스티딘 복합체 $[(\text{His})_m\text{Zn}^{2+}(\text{H}_2\text{O})_n]$ ($m=1,2,3, n=0,1,2$) 제조방법.

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 이산화탄소를 중탄산이온으로 전환하는 반응을 활성화하는 아연-히스티딘 복합체의 제조방법과 상기 방법으로 제조된 아연-히스티딘 복합체 및 이를 이용한 이산화탄소 저감방법에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 우리가 사용하는 대부분의 에너지는 탄화수소로 이루어진 화석연료 (석유, 석탄, 천연가스 등)를 태워 나오는 열로부터 얻어지는데 에너지를 얻기 위해서는 반드시 이산화탄소를 배출할 수밖에 없다. 이산화탄소는 온실가스를 구성하는 주성분으로서 가장 많은 양을 차지하고 성분이다.

[0003] 온실가스로 인한 기후변화는 기후시스템을 변화시켜 해수면의 상승, 극지성 폭우 및 폭설 등의 기상이변을 가져와 육상 및 해양 생태계에 변화를 초래하고 있다. 따라서 배출 규제가능한 대기 중 이산화탄소 농도를 줄여야 지구온난화를 방지할 수 있다는 공감대가 전세계적으로 형성되어 이산화탄소를 감소시킬 수 있는 방안이 논의되고 있다.

[0004] 탄산탈수효소 (Carbonic Anhydrase, CA)는 이산화탄소를 중탄산이온으로 전환하는데 사용되고 있는 효소이다. 이산화탄소의 중탄산이온으로의 전환 반응은 속도론적으로 매우 느린 반응이다. 때문에 연체동물을 포함한 탄산칼슘을 합성하는 생명체들은 탄산탈수효소를 이용하여 이를 빠르게 진행시킨다. 또한 탄산탈수효소는 호흡이나 이온전달과 산-염기의 조절 등과 같은 생리학적 기능에도 작용하는 것으로 알려져 있다 [Meldrum and Roughton, 1933]. 최근에는 탄산탈수효소를 이용하여 이산화탄소를 포집하고자 하는 연구가 활발히 진행되고 있다.

[0005] 그러나 상용화된 탄산탈수효소의 고비용과 복제 및 정제 과정의 어려움으로 인한 대량생산의 한계로 인해 탄산탈수효소를 대체할 수 있는 물질의 개발이 요구되고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 본 발명의 목적은 상용화된 시약 등으로부터 이산화탄소를 중탄산이온으로 전환시키는 반응을 촉진시키는 탄산탈수효소를 대체할 수 있는 촉매를 제조하는 방법을 제공하고, 이를 이용하는 이산화탄소 저감방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0007] 본 발명의 아연-히스티딘 복합체 $[(His)_m?Zn^{2+}(H_2O)_n]$ ($m=1,2,3, n=0,1,2$) 제조방법은, (a) 히스티딘 수용액과 글루타르알데히드 수용액을 혼합하여 제1 혼합 용액을 형성하는 단계; (b) 상기 제1 혼합 용액에 초산 아연 수용액을 혼합하여 아연-히스티딘 복합체 입자를 포함하는 제2 혼합 용액을 형성하는 단계; 및 (c) 상기 제2 혼합 용액으로부터 상기 아연-히스티딘 복합체 입자를 분리하는 단계를 포함한다.

[0008] 상기 단계 (a) 이후에, (a') 상기 제1 혼합 용액을 농축하는 단계를 더 포함할 수 있다.

[0009] 상기 단계 (a')은 25 내지 70 °C에서 30 분 내지 10 시간 동안 수행하는 것일 수 있다.

[0010] 상기 히스티딘 수용액의 농도는 0.01 내지 1 M이고, 상기 글루타르알데히드 수용액의 농도는 0.01 내지 1 M일 수 있다.

- [0011] 상기 초산 아연 수용액의 농도는 0.01 내지 1 M일 수 있다.
- [0012] 상기 단계 (b)는 20 내지 70 °C에서 30 분 내지 5 시간 동안 수행하는 것일 수 있다.
- [0013] 본 발명의 아연-히스티딘 복합체는 상기의 방법 중 어느 하나의 방법으로 제조된 것이다.
- [0014] 본 발명의 이산화탄소 저감방법은 상기의 방법 중 어느 하나의 방법으로 제조된 아연-히스티딘 복합체를 촉매로 이용하여 이산화탄소를 중탄산이온으로 전환 반응시키는 것이다.

발명의 효과

- [0015] 본 발명에 의하면, 이미 상용화되어 있는 시약 등으로부터 아연-히스티딘 복합체를 제조하여 이산화탄소의 중탄산이온으로의 전환반응을 촉진하는 촉매를 제조할 수 있다.
- [0016] 본 발명의 제조방법에 의한 아연-히스티딘 복합체를 이용하여 이산화탄소 배출량을 저감시킬 수 있다.
- [0017] 특히, 종래의 탄산탈수효소의 대량생산이 곤란한 문제를 해결하여 이를 대체함으로써 이산화탄소 저감 기술의 경제성을 확보할 수 있다.
- [0018] 또한, 본 발명의 아연-히스티딘 복합체는 열적 안정성 및 저장 안정성이 뛰어나 상용화에 유리하다.

도면의 간단한 설명

- [0019] 도 1은 본 발명의 실시예의 아연-히스티딘 복합체의 SEM 이미지이다.
- 도 2는 본 발명의 실시예 1의 아연-히스티딘 복합체 (b)와 비교예 Glu-His (a)의 적외선 분광광도계 분석결과 그래프이다.
- 도 3은 본 발명의 실시예 2-1 내지 2-5의 아연-히스티딘 복합체의 반응온도에 따른 이산화탄소의 중탄산이온으로의 전환반응에 대한 촉매로서의 활성을 나타낸 그래프이다.
- 도 4는 본 발명의 실시예 3-1 내지 3-4의 초산 아연의 첨가속도에 따른 이산화탄소의 중탄산이온으로의 전환반응에 대한 촉매로서의 활성을 나타낸 그래프이다.
- 도 5는 본 발명의 실시예 1의 아연-히스티딘 복합체의 보관 안정성을 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0020] 본 발명의 아연-히스티딘 복합체 $[(\text{His})_m \text{Zn}^{2+} (\text{H}_2\text{O})_n]$ ($m=1,2,3, n=0,1,2$) 제조방법은, (a) 히스티딘 (Histidine) 수용액과 글루타르알데히드 (glutaraldehyde) 수용액을 혼합하여 제1 혼합 용액을 형성하는 단계; (b) 상기 제1 혼합 용액에 초산 아연 (zinc acetate) 수용액을 혼합하여 아연-히스티딘 복합체 입자를 포함하는 제2 혼합 용액을 형성하는 단계; 및 (c) 상기 제2 혼합 용액으로부터 상기 아연-히스티딘 복합체 입자를 분리하는 단계를 포함하는 것이다. 히스티딘 수용액, 글루타르알데히드 및 초산 아연은 모두 기상용화된 시약 등이기 때문에, 대량생산이 곤란한 탄산탈수효소를 대체하는 아연-히스티딘 복합체의 제조방법으로서 타당성이 있다.
- [0021] 상기 단계 (a) 이후에, (a') 상기 제1 혼합 용액을 농축하는 단계를 더 포함할 수 있다. 상기 단계 (a')은 25 내지 70 °C에서 30 분 내지 10 시간 동안 수행할 수 있다.
- [0022] 25 °C 보다 낮으면 합성이 원활하게 진행되지 않아 이산화탄소 수화반응이 원활하게 진행되지 않으며, 70 °C를 넘게 되면 아연과 히스티딘 분자간의 배위결합의 열안정성이 떨어져 이산화탄소 수화반응의 활성에 영향을 줄 수 있다. 또한, 농축시간이 30 분 보다 짧으면, 충분한 혼합 및 농축이 이루어지지 않고, 10 시간이 넘게 되면 용액의 기화현상에 의해 아연과 히스티딘의 농축비가 변하여 이산화탄소 수화반응의 활성에 방해요소로 작용한다.
- [0023] 단계 (c) 이후에, (c') 상기 분리된 아연-히스티딘 복합체 입자를 건조하는 단계를 더 포함할 수 있다. 상기 건조는 10 내지 40 °C에서 5 내지 48 시간 동안 수행할 수 있다.

- [0024] 단계 (a)의 히스티딘 수용액의 농도는 0.01 내지 1 M이고, 글루타르알데히드 수용액의 농도는 0.01 내지 1 M 일 수 있다.
- [0025] 단계 (b)의 초산 아연 수용액의 농도는 0.01 내지 1 M 일 수 있다.
- [0026] 상기 단계 (b)는 20 내지 70 °C에서 30분 내지 5시간 동안 수행할 수 있다. 단계 (c)의 아연-히스티딘 복합체 입자의 분리는 원심분리법 또는 침전법과 여과법에 의해 분리 할 수 있다.
- [0027] 본 발명의 아연-히스티딘 복합체 $[(His)_m?Zn^{2+}(H_2O)_n (m=1,2,3, n=0,1,2)]$ 는 상기의 방법으로 제조된 것이다.
- [0028] 상기 아연-히스티딘 복합체는 20 내지 100 nm일 수 있다. 이는 아연과 히스티딘 결합 및 응집길이를 포함한 값이다.
- [0029] 한편, 본 발명의 이산화탄소 저감방법은, 상기의 방법으로 제조된 아연-히스티딘 복합체를 촉매로 이용하여 이산화탄소를 중탄산이온으로 전환 반응시키는 것이다. 본 발명의 아연-히스티딘 복합체는 종래의 탄산탈수효소를 대체하기에 충분한 촉매 활성을 갖는다. 상기 이산화탄소의 중탄산이온으로의 전환 반응은 하기의 화학식 1에 의하는 것이다.
- [0030] [화학식 1]
- [0031] $CO_2 (aq) + H_2O \rightarrow H^+ + HCO_3^-$
- [0032] 본 발명의 아연-히스티딘 복합체는 상기 반응의 촉매로 작용하여 상기 반응의 반응속도를 높여준다.
- [0033]
- [0034] 실시예
- [0035] 이하, 도면과 함께 실시예 및 비교예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명한다. 다만, 이는 설명을 위한 예시일뿐, 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0036] 실시예 1
- [0037] 0.1 M 농도의 L-히스티딘 수용액 0.1 M 농도의 글루타르알데히드 수용액을 각각 10 ml를 혼합하여 제1 혼합 용액을 제조하였다. 이를 45 °C에서 2 시간 동안 농축하였다. 두 용액이 혼합되어 부피가 2배로 증가하여 0.1 M의 농도는 0.05 M로 되었고 2시간 동안 농축되어 0.056 M의 농도로 농축되었다. 농축과정에서 제1 혼합 용액의 색은 투명한 용액으로부터 연한 갈색으로 변화하였다.
- [0038] 충분히 농축이 이루어진 후에 제1 혼합 용액 10 ml를 취하였다. 이에 0.033 M 농도의 초산 아연 수용액을 초당 1000 μ l씩 첨가 (10초 동안 10 ml)하면서, 45 °C에서 2 시간 동안 혼합하여 제2 혼합 용액을 제조하였다.
- [0039] 이렇게 얻은 제2 혼합 용액으로부터 아연-히스티딘 복합체 입자를 원심분리기 (10,000 rpm, 10분)를 이용하여 분리 회수하고 분리된 아연-히스티딘 복합체 입자를 상온에서 48시간 동안 건조하여 아연-히스티딘 복합체를 제조하였다.
- [0040] 도 1은 실시예 1에서 얻어진 아연-히스티딘 복합체의 SEM 사진이다.
- [0041] 실시예 2-1 내지 2-5
- [0042] 실시예 1과 다른 조건은 동일하고 반응온도만을 30, 40, 50, 60, 70 °C로 다르게 하여 아연-히스티딘 복합체를 제조하였다.
- [0043] 실시예 3-1 내지 3-4
- [0044] 실시예 1과 다른 조건은 동일하고 초산 아연의 첨가속도만을 0.5, 1.0, 1.5, 2 ml/s로 다르게 하여 아연-히스

티딘 복합체를 제조하였다.

[0045] 비교예

[0046] 비교예로는 히스티딘-글루타르알데히드만의 구조체를 사용하였다.

[0047] 실시예 1에 의해 합성한 아연-히스티딘 복합체와 비교예의 히스티딘-글루타르알데히드만의 구조체의 이산화탄소 전환 활성도를 비교 평가하였다. 아래 표 1에서 보는 바와 같이 히스티딘-글루타르알데히드 구조체의 경우 아연-히스티딘 복합체와 비교하여 약 1/3 정도의 약학 활성을 띠는 것을 확인할 수 있었다. 이는 양이온 전하를 갖는 히스티딘분자가 물에 용해된 이산화탄소와의 수화반응을 촉진하는 촉매 물질로 작용한 결과라 할 수 있다. 아래 표에서 알 수 있듯 아연-히스티딘 복합체가 이산화탄소 수화반응을 촉진하는 물질임을 확인할 수 있다.

표 1

구분	활성도 (%)*
아연-히스티딘 복합체	100
히스티딘-글루타르알데히드	31

[0049] *: UV에 의해 측정된 값들 중에서 큰 값의 항목을 100으로 놓고 작은 값의 항목을 상대활성도 $[100 - ((\text{큰 값} - \text{작은 값}) \times 100 / \text{큰 값})]$ 로 측정하여 활성도를 계산하였다.

[0050] 이산화탄소 전환 활성도 평가

[0051] 본 발명의 아연-히스티딘 복합체의 촉매로서의 성능을 확인하기 위하여 비교예와 함께 활성도 평가를 실시하였다. 활성도는 탄산탈수효소가 p-니트로페닐 아세테이트 (p-nitrophenyl acetate)를 p-니트로페놀 (p-nitrophenol)로 전환하는 특성을 갖는 점에 착안하여, p-니트로페닐 아세테이트를 p-니트로페놀로 전환시키는 능력을 측정하여 활성도 평가를 수행하였으며, 자외선 분광광도계 (Fourier transform Infrared Spectrometry)를 사용하여 p-니트로페닐 아세테이트의 p-니트로페놀로의 전환 정도를 측정하였다.

[0052] 트리스 (Tris) 용액 (50 mM, pH 8.0) 2.4 ml에 아세토니트릴 (acetonitrile) (99.8 %) 용액에 용해된 p-NPA (p-nitrophenyl acetate) 0.3 ml와 0.3 mg의 측정물질을 녹인 트리스 용액 0.3 ml를 혼합하여 총 부피가 3 ml가 되게 하였다. 혼합 후 대기 중에서 5 분 동안 혼합액을 유지시킨 후 400 nm에서 3 분 동안 측정하였다. 위와 같은 활성도 측정법은 Ozdemir법 (Ozdemir E., 2009. Biomimetic CO₂ sequestration: 1. Immobilization of carbonic anhydrase within polyurethane foam, Energy & Fuels, 23, 5725-5730)을 참고하였다.

[0053] 열적 안정성 / 저장 안정성 평가

[0054] 열적 안정성 및 저장 안정성 평가를 위해 트리스 용액 (50 mM, pH 8.0)을 사용하였다.

[0055] 열적 안정성은 트리스 용액에 용해된 아연-히스티딘 복합체가 30 °C에서 70 °C까지 온도 조절된 항온조에서 4 시간 동안 유지한 후 활성도를 측정하여 평가하였고, 저장 안정성은 트리스 용액에 용해된 아연-히스티딘 복합체를 3일 간격으로 12일 동안 활성도를 측정하여 평가하였다.

[0056] 도 2는 본 발명의 실시예 1의 아연-히스티딘 복합체 (b)와 비교예 Glu-His (a)의 적외선 분광광도계 분석결과 그래프이다. 비교예의 Glu-His와 비교하여 본 발명의 실시예 1은 1634 cm⁻¹의 파장 영역에서의 C=N stretching이 1590 cm⁻¹로 시프트 (shift)되었으며 650 cm⁻¹ 과 550 cm⁻¹ 근방에서 Zn-N 결합 (히스티딘 분자 내에 존재하는 질소와 아연의 결합)으로 추정되는 피크의 존재를 확인할 수 있었다.

[0057] 도 3은 본 발명의 실시예 2-1 내지 2-5의 아연-히스티딘 복합체의 반응온도에 따른 이산화탄소의 중탄산이온

으로의 전환반응에 대한 촉매로서의 활성을 나타낸 그래프이다.

[0058] 실시예 2-1 내지 2-5 모두 30 °C에서 70 °C 범위에서의 활성도를 측정한 결과, 70 °C까지도 80 % 수준의 활성이 유지됨을 확인할 수 있었다. 열적 안정성은 이산화탄소의 중탄산이온으로의 전환 반응뿐만 아니라 신약에 사용되는 촉매의 요구 조건 중의 하나이므로 본 발명의 활용도를 더욱 높여주는 것으로 볼 것이다.

[0059] 도 4는 본 발명의 실시예 3-1 내지 3-4의 초산 아연의 첨가속도에 따른 이산화탄소의 중탄산이온으로의 전환 반응에 대한 촉매로서의 활성을 나타낸 그래프이다. 초산 아연의 첨가속도를 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 ml/s 로 유지하였을 때 촉매 활성은 모두 90 % 수준을 유지하였고 1.0 ml/s의 경우 가장 높은 활성을 보여주었다.

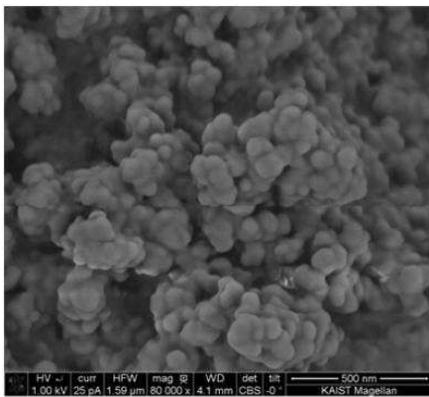
[0060] 도 5는 본 발명의 실시예 1의 아연-히스티딘 복합체의 보관 안정성을 나타낸 그래프이다.

[0061] 도 5에서 보는 바와 같이 12일이 경과된 이후에도 약 89 % 수준의 활성이 유지되고 있음을 확인할 수 있었다.

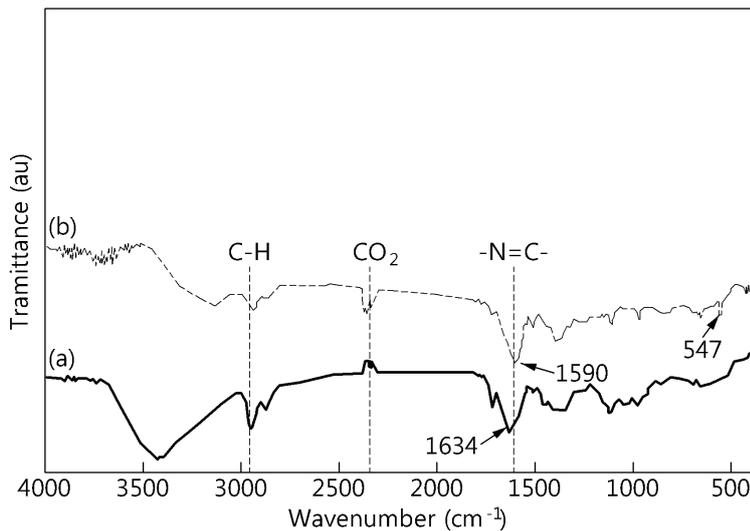
[0062] 위의 결과들로부터 본 발명의 아연-히스티딘 복합체가 이산화탄소의 전환반응에 활성을 가지고 있을 뿐만 아니라 열적 안정성과 저장 안정성도 우수함을 확인할 수 있었다. 상술한 바와 같이 본 발명의 제조방법은 이미 상용화된 시약을 활용한 아연-히스티딘 복합체의 제조방법이므로, 이를 통해 대량생산이 곤란한 종래의 탄산탈수효소를 대체하는 효과가 기대된다.

도면

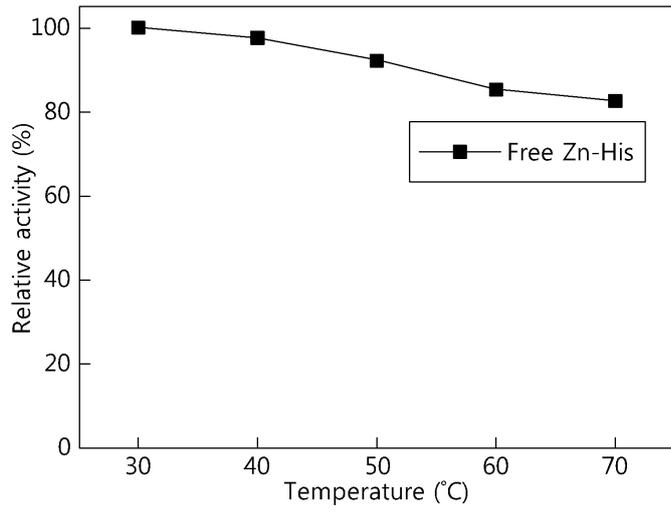
도면1



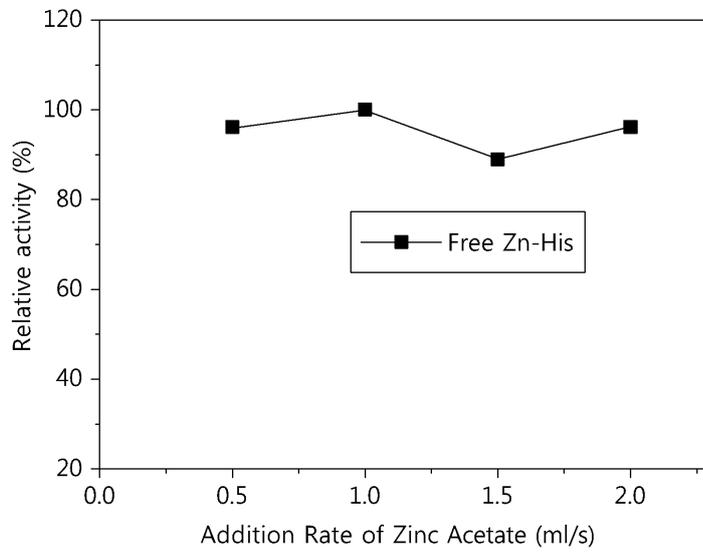
도면2



도면3



도면4



도면5

