

核酸系 調味工業의 展望

一部分的 合成에 依한 生産

李 錫 健 *

生活水準이 向上되어 갈수록 食卓에는 高價의 調味料가 따르게 마련이다. 8.15解放 前에는 日本人들이 製造販賣하던 맛나니, 즉, “아지노모도”라는 것이 있었다. 이것은 요즈음 우리가 많이 利用하고 있는 monosodiumglutamate인데 그 當時의 우리나라 國民들의 生活水準으로는 高價인 이 調味料가 一般적으로 利用될 수 없었을 뿐만 아니라 民族的 感情에 依하여 이것을 뱀가루라고 하며 사먹기를 꺼려했던 것이다. 그러나 지금으로부터 약 15~6年前부터는 國內에서 이 調味料가 製造되기 始作하였는데 當時의 規模나 方法은 原始的인 것에 不過했던 것이다. 卽, 小麥蛋白質인 gluten을 鹽酸分解하여 만들었던 것이다.

이러한 方法의 調味料業界는 날로 發展하여 7~8年前부터는 몇개의 큰 會社들이 製造方法을 醱酵法으로 轉換하여 需要와 함께 生産規模도 점차 擴大되었다. 近來 日本 等 外國에서는 강한 呈味性을 갖는 核酸系 調味料가 生産되어 愛用되고 있으나 우리나라에서는 아직 전혀 生産되고 있지 않으므로 今年初부터 얼마전까지 이 核酸系 調味料의 輸入 與否를 둘러싸고 調味料生産業者들 間에는 많은 葛론이 벌어졌었다. 요즈음 우리나라에 있어서 調味料의 需要供給의 추이로 보아 數年內에 이 核酸系 調味料의 國內生産이 또한 可能하게 되리라고 믿어지며 그 展望에 對한 몇가지 點을 살펴보기로 한다.

核酸系調味料의 하나인 5'-Inosine monophosphate (5'-IMP, Inosine酸)는 1874年 Liebig에 依하여 처음 發見된 것으로서 강한 呈味性을 갖기 때문에 化學調味料로서 매우 高貴한 것이다. 5'-IMP외에도 강한 呈味性을 갖는 核酸系 調味료로는 5'-guanosine monophosphate (5'-GMP, 구아닐酸), 5'-xanthine monophosphate (5'-XMP, 키산철酸), 5'-deoxyinosine monophosphate (5'-DIMP, 데옥시이노신酸), 5'-deoxy-

guanosine monophosphate (5'-DGMP, 데옥시구아닐酸) 등이 現在까지 알려져 있다. 이들 核酸系 物質은 細胞核을 이루는 重要性分의 하나로서 生物系에 널리 存在한다. 따라서 製造方法에 있어서는 牛肉·馬肉·兔肉 等 天然資源으로부터 추출하는 方法이 있고 ribonucleic를 많이 含有하는 酵母, 즉, *Candida*, *Pichia*, *Saccharomyces* 등을 大量 배양하여 얻어진 RNA를 5'-phosphodiesterase로 酵素分解하여 얻는 方法이 있다. 此外에 nucleoside 或은 nucleotide를 微生物의 培養終了後 適當한 方法으로 菌體外로 排出시키거나 核酸의 全合成을 中間에서 차단, 中間代謝物을 蓄積시키는 所謂 直接醱酵法이 있다. Inosine酸 醱酵의 工業化에 成功한 菌株는 培養에 있어서 adenine과 histidine을 要求하는 *Bacillus subtilis*의 變異株로서 inosine酸의 生成量이 가장 많다고 한다. 이 외에도 guanine要求性 *Aerobacter aerogenes* 變異株, 其他 *Bacillus megatherium*, *Pseudomonas perlurida*, *Proteus rettgerii*, *Bacillus subtilis*, 大腸菌 等의 細菌類의 guanine要求株, adenine要求株, guanine과 adenine 二重要求株 等에 依하여 培養液 1'當 6~35g의 xanthosine을 生産한다고 報告되어 있다. 즉, 合成에 依하여 얻어진 鹽基를 前驅體로서 첨가한 培地에 微生物을 배양하거나 或은 酵素를 作用시켜 nucleoside; 다음에 nucleotide로 變換시키는 方法으로서 廣意의 半合成法이라고 할 수 있으나 醱酵的 生合成으로 여기에 對하여는 省略한다.

5'-ribonucleotide는 이미 몇가지 方式에 依하여 純有機合成的으로도 만들어지고 있다. 그 構成性分인 糖部·鹽基部 및 磷酸基의 結合에 依하여 5'-ribonucleotide를 만드는 方法은 結合시키는 順序에 依하여 二大別된다. 즉, 먼저 糖과 鹽基로서 nucleotide를 만들고 이것을 磷酸化하는 方法과 糖을 먼저 磷酸化한 다음에 鹽基와 結合시키는 方法인 것이다. 全合成法으로서는

* 忠南大學校 農科大學

前者가 主流를 點하고 있으며 後者에 對하여는 研究의 歷史가 짧다. 核酸의 合成에 있어서 ribose 등이 싼 값으로 쉽게 求해짐으로 半合成法은 現在 工業적으로 實施되고 있지 않으며 上記의 反應段階의 一部分에 微生物을 利用하거나 或은 中間原料를 天然物에서 求하여 殘部를 化學合成하는 所謂半合成法이 檢討된 結果 相當히 有利한 生産方式으로서 現在 核酸分解法과 함께 工業的 製造法의 主體를 이룰 可能性이 있다. 그런데 이 半合成法에도 極히 여러 가지의 경우가 있다. 예를 들면 微生物의 培養에 依하여 蓄積된 5'-AMP에 HNO_2 를 作用시켜 5'-IMP로 하는 거나 或은 微生物의 培養에 依하여 얻어진 D-ribose와 guanine을 原料로 하여 化學적으로 5'-GMP를 合成하는 것도 廣意의 半合成法이라고 할 수 있다. 여기에서는 다만 天然物 或은 合成에서 얻은 nucleoside에 微生物을 培養해서 或은 酵素를 作用시켜서 nucleotide로 하는 方法과 nucleoside에 化學적으로 磷酸化하는 方法에 局限하여 몇 가지 點을 살펴보기로 한다.

1. 核酸과 核酸關連 化合物의 化學

核酸은 有機鹽基(pyrimidine 및 purine의 誘導體)·五炭糖·磷酸 등으로 된 高分子 化合物로서 五炭糖이 D-ribose인 ribonucleic acid (RNA)와 2-deoxy-D-ribose인 deoxyribonucleic acid (DNA)로 二大別 된다. 有機鹽基에 糖이 結合한 化合物을 一般으로 nucleoside라고 하며 그 糖에 磷酸이 結合한 것을 nucleotide라고 한다. 核酸은 鹽基部를 달리하는 몇개의 nucleotide가 多數結合한 混合 polynucleotide이다.

i) 有機鹽基

核酸의 成分으로서 pyrimidine系의 鹽基는 uracil, cytosine, thymine의 셋이 있고 이 外에 5-methyl cytosine, oxy-methyl cytosine 등이 微量存在한다. 한편 purine系의 鹽基로는 adenine과 guanine이 主成分으로서 存在하여 2-methyl adenine, 6-methyl amino purine, 6-dimethyl amino purine, 2-methyl amino-6-oxy purine, 1-methyl guanine 등을 少量 含有하고 있는 核酸도 發見되고 있다. Hypoxanthine과 xanthin은 本來 核酸成分으로서는 存在하지 않으나 adenine과 guanine으로부터 容易하게 生成되며 極히 重要한 化合物이다.

ii) Nucleoside

核酸分解物에서 分離된 nucleoside는 어느 것이나 糖과 有機鹽基가 N-glucoside 結合한 것으로서 還元性은 없다. Nucleoside中の 糖은 ribose이거나 deoxyribose

이거나 모두 furanose環을 形成해서 糖의 1'位가 pyrimidine核의 3位 N 或은 purine核의 9位 N과 β -glucosyl 結合하고 있다.

iii) Nucleoside의 酸 ester

Nucleotide는 nucleoside의 糖部分의 OH基에 磷酸이 ester 結合한 것으로서 riboside의 2', 3', 5'位의 OH基가 어느 것이나 磷酸化 할 수 있으므로 3種類의 異性體가 存在하며 各各 磷酸의 결합위치를 明示하기 위하여 名稱의 앞에 2'等を 부쳐서 나타낸다. Deoxyribonucleoside는 3'-와 5'- 2種 밖에 없다. 또 riboside의 2'位 OH基와 3'位에 하나의 磷酸이 結合한 環狀磷酸 ester이 存在하며 또 3', 5'-環狀 ester도 알려져 있으나 立體的인 關係에서 2', 5'의 것은 存在하지 않는다.

以上の 것은 하나의 nucleoside에 하나의 磷酸이 結合한 것이었으나 2個 以上の 磷酸이 結合한 것도 있으며 특히 磷酸이 계속해서 直列로 結合한 것에는 ATP等 nucleotide 補酵素로서 重要한 것이다.

iv) 核酸

RNA나 DNA가 모두 앞서 詳한 바와 같이 nucleoside의 3'위와 5'위가 磷酸에 依하여 結合된 構造를 갖고 있다.

RNA는 分子量을 달리 하는 것이 있으며 高分子 構造에는 아직 밝혀지지 않은 點이 많으나 단순한 一本鎖로는 存在하지 않고 大概 同一分子 鎖中の adenine과 uracil, guanine과 cytosine과의 사이에 水素結合하여 접어진 構造를 갖는 것으로 짐작된다. 種類나 存在狀態에 따라서는 二重나선을 이룰 可能性도 있다. DNA分子는 RNA보다도 大端히 크다. 分子量이 600~1,000萬 程度이며 數十億인 거대한 것도 있다. 二本의 polynucleotide鎖가 逆方向으로 配合하여 各各 adenine과 thymine, guanine과 cytosine간의 水素結合에 依하여 連結된 二重나선 構造를 形成하고 그 糸狀 巨大分子가 環狀을 이룬다고 짐작된다.

2. 核酸과 核酸關連物質의 化學的 性質

i) 脫 amino 反應

調味料 製造와 關連해서 가장 重要한 反應은 amino基를 갖는 purine體에 있어서 脫 amino이다. 有機鹽基, nucleoside, nucleotide의 어느 것에서나 亞硝酸의 作用에 依하여 oxypurine體를 만든다. 이 反應을 利用해서 adenylic acid에서 inosine酸을 만들 수가 있다.

ii) 糖部分 水酸基의 反應

Polynucleoside의 糖部分의 OH基는 어느 것이나 acyl化된다. 예를 들면 pyridine中에서 無水酢酸을 作用시

키면 結晶性의 2',3',5'- triacetyl體를 生成한다. 또 $POCl_3$ 등을 作用시키면 3種의 mono磷酸 ester의 混合物을 만든다. Diarylphosphorochloridate等 他 磷酸化劑를 使用할 때 直接反應에서는 5'位만 作用시키기는 困難하다. 따라서 5'-mononucleoside만을 얻으려면 2'位와 3'位를 保護하지 않으면 안된다. 즉, acetone이나 benzaldehyde를 脫水觸媒로 作用시켜서 2',3'環狀 acetal을 만드는 反應이다.

iii) 酸·alkali에 의한 分解

核酸成分으로서 存在하는 pyrimidine 鹽基, purine 鹽基의 核은 酸이나 alkali에 比較的 强하다. 그러나 amino基를 갖는 것은 酸處理에 依하여 脫 amino되는 일이 많다. 이러한 性質은 nucleoside나 nucleotide에 있어서도 마찬가지이다. Pyrimidine-riboside는 一般의 N-glucoside와 마찬가지로 酸에 依하여 加水分解를 받기 쉽다. 그러나 adenosine이나 guanosine에 亞硝酸을 作用시키면 glucoside 結合은 끊어지지 않으며 脫 amino가 일어나서 各各 inosine, xanthosine으로 된다.

Nucleotide에 있어서 磷酸 ester 結合은 alkali에 依하여 容易하게 加水分解되는 反面에 酸에 對해서 比較的 强하다. 따라서 nucleoside를 alkali 處理하면 有機鹽基와 糖磷酸 ester을 生成한다. RNA는 alkali에 依하여 容易하게 加水分解한다. 1N-alkali 中에서 室溫으로 1日間 放置하면 거의 分解된다. 이때 얻어지는 것은 2'-nucleotide와 3'-nucleotide의 混合物이다. 또한 酸에 依해서도 分解되기 쉽다. 1N鹽酸으로 100°C, 1時間 加熱하면 有機鹽基로까지 分解된다. 99% formic acid로 170°C, 30分間 或은 12N過鹽素酸으로 100°C, 50分間 加熱分解하는 方法도 있다. 如何間 RNA를 酸이나 alkali로 分解하는 方法으로는 5'-nucleotide를 얻을 수 없다. 따라서 RNA로부터 5'-nucleotide를 얻으려면 다만 酵素分解에 依存하지 않으면 안된다.

iv) 酵素에 의한 分解

酵素에 依한 核酸의 分解는 主로 磷酸 ester 結合한 곳에서 일어난다. 여기에 關與하는 酵素, 卽, 磷酸 diesterase 中 RNA에만 作用하는 것을 RNase, DNA에만 作用하는 것을 DNase라하고 이 외에 RNA, DNA의 區別없이 分解하는 非特異的인 것이 있다. 磷酸 ester 結合을 끊는 때는 두가지 方式 이었다. 卽, 五炭糖의 5'位의 磷酸 ester을 남게 하는 酵素가 5'-phosphodiesterase이며 3'位의 磷酸 ester 結合을 남게 하는 것이 3'-phosphodiesterase이다. RNase, DNase, 非特異性 PDase의 어느 것에도 이러한 두 種類가 있다. 調味料工業의 立場에서 重要한 것은 5'-PDase이다. 이것은 蛇毒이나 소의 小腸粘膜 等に 存在하는 것이 알려져

있으며 各種의 微生物에 依하여 또한 生成되므로 RNA로부터 5'-nucleotide의 製造에 利用되고 있다. 또 生成된 3'-或은 5'-nucleotide에 作用해서 磷酸을 脫離시키는 3'-或은 5'-nucleotide phosphohydrolase가 있다. 5'-RNase에 依하여 RNA를 酵素 分解할 때 이 酵素가 存在하면 새로 生成된 5'-nucleotide가 다시 分解되므로 NaF 등의 阻害劑로서 그 作用을 막을 必要가 있다.

Nucleotide에서 有機鹽基의 分解를 이끄는 酵素로는 加水分解하는 nucleosidase와 加磷酸分解하는 nucleoside-phosphorilase 등이 있다.

核酸類의 鹽基部分에 作用하는 酵素 中에는 脫 amino 酵素가 重要하다. 이들 中에는 adenine 등의 NH_2 基를 OH基로 하는 것도 있다.

3. Ribonucleoside의 化學的 磷酸化에 依한 ribonucleotide의 生産

Nucleoside에 直接 $POCl_3$ 등의 磷酸化劑를 作用시키면 5'位 뿐만 아니라 2'位나 3'位의 OH基도 ester化되므로 5'-ribonucleotide만을 얻기 위한 基本的인 方法 으로서는 먼저 ribonucleoside에 acetone이나 benzaldehyde 등을 作用시켜 2'位와 3'位를 保護하고 여기에 $Ba(OH)_2$ 水溶液 或은 pyridine 中에서 比較的 低溫으로 $POCl_3$ 를 作用시켜 5'位를 磷酸化시킨 다음 保護基를 除去하는 方法이 널리 行해지고 있다. 本法은 purine-ribonucleoside에도 適用되나 收率은 좋지 않다 더욱이 $POCl_3$ 는 monophosphoester뿐만 아니라 pyrophosphoester이나 triphosphoester 등을 副生하는 缺點이 있다. 그런데 特別한 溶媒를 使用하여 過剩의 $POCl_3$ 를 作用시키면 80% 以上の 收率로서 mono磷酸化가 일어난다고 한다. 예를 들면 2',3'-isopropideninosine 5g을 $POCl_3$ 50ml 中에 投入하고 N_2 gas를 通해서 15°C로 15時間 둔 다음 未反應의 $POCl_3$ 를 15mmHg로 回收하고 殘渣를 pH1.5, 70°C로 1時間 加熱하면 收率 82%의 inosine酸이 얻어지며 pyro, 또는 tryphosphoester는 生成되지 않는다. Alcohol類를 添加한 $POCl_3$ 에 依한 磷酸化도 行해지며 收率 82%가 얻어진다. 한편 2',3'位의 位保護法에도 많은 研究가 進行되어 高收率의 2',3'-isopropylidene體를 얻을 수 있다고 한다.

예를 들면 inosine 1, acetone 10~13, HCl 1, $POCl_3$ 1의 mole比로서 10°C, 30分間 攪拌하면 收率 約 97%에 達한다고 한다.

最近에는 acetone 中에서 微量의 물 或은 t-butanol 등의 存在下에 $POCl_3$ 를 直接 nucleoside에 作用시키면 (54面으로 계속)