

# Serratiopeptidase 국산화와 우리의 경험

유한화학(주) 魯 龍 澤

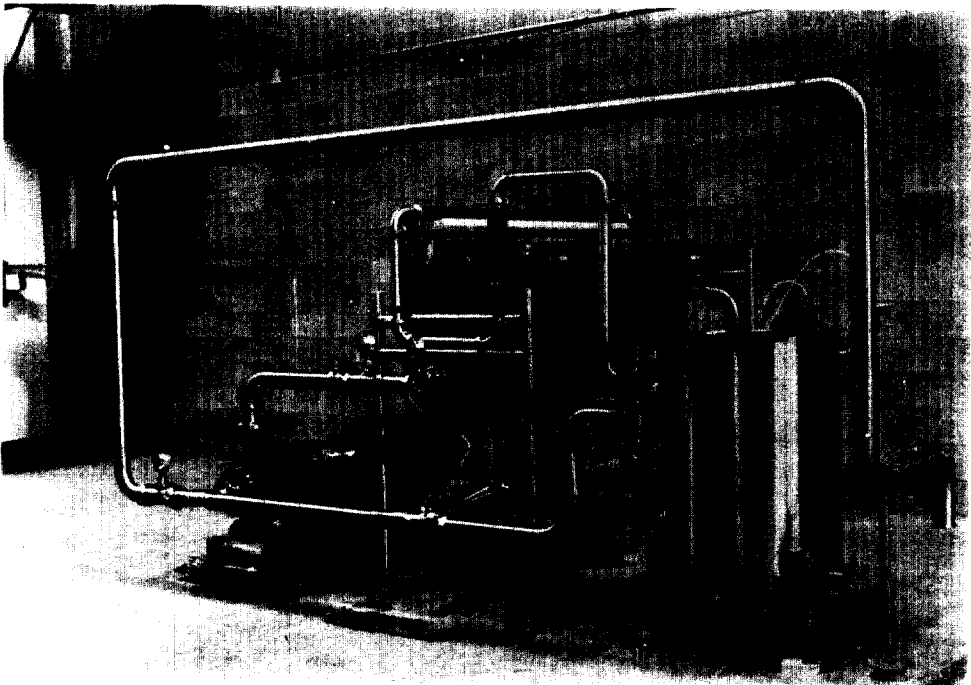
1983년 부터 3년여에 걸쳐 유한양행 중앙연구소에서 우수 균주 개량 및 발효법에 의한 효소 생산을 확립시켜 산업화 가능 수준까지 도달하였다. 그러나 당사에서 생산시 국제가격하락 및 품질경쟁을 예상할 때 실제 생산에서는 실험실 수준의 2배 이상의 역가향상과 회수율 향상이 필요하였고, 실험실에서 손쉽고, 경제적인 생산방법들이 규모가 큰 공장 설비에서는 경제적이지 못했으므로 별도의 산업화 작업이 필요하였다.

이러한 일련의 scale-up 실험은 연구소의 여러 기초 실험결과를 토대로, 기존설비들에 적합하게, 대량생산이 가능하게, 작업이 안전하게, 생산성의 변동이 적게, 공정속도가 빠르게, 경제성이 높게

하는 것을 목표로 진행시켰다. 이미 항생제 Rifamycin 발효생산을 통하여 축적된 기술 경험을 최대한 되살려 발효 및 회수·정제의 산업적 기술개발에 응용하였다. 가장 중요한 관건이 된 점을 몇가지 들면 다음과 같다.

## 1. 균주 보존

산업화시 최초의 문제는 균주 보존 방법이다. 번이가 진행되는 미생물을 실험실에서 처럼 적당히 계대하면 역가도 저하될 뿐 더러, 복잡한 요인이 많은 발효 공정에서의 문제점 발견이 어렵다. 적어도 1년분 이상의 동일 로트분의 균주를 언제



회수·정제시설

라도 식균하면 즉시 활성이 회복되어, 거대한 발효조대를 채울 수 있는 양으로 증식될 수 있어야 한다. 또 동일 Lot분의 균주는 다른 요인을 변화시키지 않는 이상 동일한 생산성, 동일한 발효 양상을 나타내야 한다.

여러가지 실험을 통하여 보관이 용이하면서, 생산 및 효소생산력이 왕성한 상태로 보존하는 방법이 개발되었다.

## 2. 균주 Screening의 Manual화

일단 균주보존 방법이 확립된 후, 적어도 역가의 현상유지 및 지속적인 증진을 위해서는 균주 특성, 산물의 특성에 맞는 손쉽고, 효율이 높은 screening 방법을 모색하여, 잘 훈련된 작업자로서 하여금 1년 365일 꾸준히 우수 균주를 선별하도록 단순 반복 작업화하는 것이 필요하다.

## 3. 기존 발효시설에 맞는 공정설계

실험실에서는 종균 배양후 바로 본 발효를 수행하는데 큰 어려움이 없다. 그러나 공장에 거대한 발효조에 직접 프라스크 배양액을 식균한다면 배양시간이 상당히 길어져 에너지 허비가 매우 크고, 오염 빈도가 높아진다. 따라서 2단, 또는 3단 종균 배양을 거쳐 충분히 균체 증식 및 효소생성을 촉발시킨 후 본 발효를 실시해야 한다. 이 과정에서 여러 단계의 종균 배양조건에 대한 실험이 진행되었고, 최적화하는데 성공하였다. 또 여러개의 발효조를 거칠때, 실험실의 소규모 발효조들과는 공학적 설계가 다르므로, 별도의 최적화 시험이 필요했다. 교반속도, 통기량 조절을 통하여 생리적 변화를 최대 생산성 쪽으로 유도할 수 있기 때문이다. 이러한 과정에서는 실험실에서 실패한 실험들의 원인을 해석해 보는 것이 큰 도움이 되었다.

## 4. 배지 조성 및 배양조건외의 경제성

실험실에서 아무리 높은 생산성을 내는 배지 조성이라도 시약급 수준의 원료를 사용한다면 경제

성이 없다. 따라서 모든 원료는 Technical grade로 대체해야 하는데 원료의 품질문제 때문에 배지 조성이 재검토 되어야 했다. 특히 변동이 심한 발효 배지 원료들의 품질관리가 어려웠고, Lot에 따라 최적농도가 약간씩 차이가 나는 것이 공정관리 외의 어려움이였다.

보고된 문헌을 토대로 검토된 배지조성에는 생산에는 전혀 효과가 없이, 일반적인 생리 역활상 당연한 첨가가 이루어지거나, 장기보존 배양시 균체활성을 위해 첨가가 이루어지는 것들은 실험을 통하여 과감히 삭제하였다. 2~3일간의 발효가 끝나면 균체는 폐기되는 것이고, 유일한 목적은 높은 효소생산 뿐이다.

일반적인 효소의 실험 조건을 실제 시험을 통하여 측정된 결과 실험실 결과 또는 일반화된 이론과는 상충되는 경우가 많았다. 효소 발효의 경우 전단응력에 대한 취약성 때문에 전체적인 생체반응을 결정하는 교반속도를 높이지 못하거나, 특별한 발효조 설계가 필요하다는 것이 상식으로 통하지만, 실험결과 성장속도 및 효소 생성속도를 충분히 증가시킬 만큼 교반속도를 증가시켜도 효소의 실험은 없었다. 이러한 관점에서 배양온도, pH조절, 배지 성분중 일부의 유가조건 등을 새로이 확립하여, 에너지 및 원료비 절감, 작업의 편의성 및 생산성 향상을 이룩하였다.

## 5. 균체 분리 및 배지 성분의 분리

방선균 또는 균류처럼 간단히 연속여과 방법으로 균체를 제거하는 것이 항생제 회수 공정에서의 일반화된 방법이지만, 크기가 작은 세균을 분리하는 방법은 그리 쉽지가 않았다. 실험실에서는 고속 원심분리기를 이용, 장시간 또는 반복 처리함으로써 균체를 제거하는 것이 가능하지만, 공장 규모에서는 그렇게 높은 원심력의 원심분리기는 매우 고가이면서, 안전성의 문제가 있었고 전체적인 연속공정상 공정 흐름의 정체현상으로 생산효율이 떨어져 원가 상승이 유발되었다. 또 균체분리가 이후 모든 효소 회수·정제 공정 수율에 영향을 주므로 완벽한 균체 제거가 매우 중요하다. 그러나 공장 규모의 고속 연속 원심분리형 균체 분리