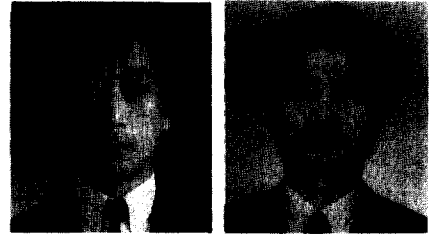


# 생물촉매를 이용한 아미노산의 새로운 제조법



KIST 유전공학연구소 성 문 희 고려대학교 식량공학과 조 흥 연

## 1. 서 론

아미노산은 발효법, 합성법, 효소법, 추출법 등으로 제조되고 있으며, 아미노산 시장의 대부분을 차지하는 glutamic acid, lysine, methionine, glycine, phenylalanine 등의 주요 아미노산은 전통적인 발효법과 합성법에 의해 주로 제조되고 있다(1-3). 표 1에 주요 아미노산의 생산량, 제조법, 용도들을 표시하였다. 최근 고정화효소법 및 화학합성법과 효소법을 병행한 반합성법(hybrid process 또는 chemo-enzymatic process라고도 함) 등의 새로운 아미노산 제조법(3-7)이 개발되어 주목되고 있다. 이러한 새로운 아미노산 제조법은 효소를 촉매라는 시각에서 수행하고 있기 때문에 생물촉매법이라 총칭하며, 생물촉매법은 화학반응으로는 곤란한 반응을 효소반응의 도입에 의하여 효율적으로 수행할 수 있는 특징과 각종 연관 아미노산 화합물을 동시에 제조할 수 있다는 대단히 유리한 장점때문에 새로운 아미노산 제조법으로 점차 기업화되고 있는 추세이다. 따라서, 본고에서는 생물촉매를 이용한 아미노산의 새로운 제조법에 대하여 소개하고자 한다.

## 2. 생물촉매를 이용한 아미노산의 새로운 제조법

1) 고정화 acylase를 이용한 L-phenylalanine, L-valine, L-methionine의 제조법  
화학합성법으로 아미노산을 제조하면 DL-아미노

산이 혼합된 라세믹체(racemic compound)로 얻어진다. 이와같은 라세믹체를 아세틸화한 후, 효소인 aminoacylase를 작용시키면 L-아미노산만 탈아세틸되어 L-아미노산이 되고, D-아미노산은 아실아미노산상태로 남게되어 분리가 매우 용이하게 된다. 이와같은 방법을 아미노산의 광학분할법이라고도 한다. 과거에는 효소를 그대로 사용한 batch법(회분법)이 이용되었으나, 1969년경 세계 최초로 고정화 aminoacylase를 이용한 연속제조법이 기업화되었다(8-10). 그림 1에 이와같은 공정의 개요를 나타내었고, 현재 고정화 aminoacylase를 이용하여 L-phenylalanine, L-valine, L-methionine 등이 공업적으로 제조되고 있다. 또한, 합성항생물질의 원료인 D-아미노산의 제조에도 응용되고 있다.

### 2) 고정화균체를 이용한 L-aspartic acid와 L-alanine의 제조법

Fumaric acid에 효소 aspartase를 작용시키고 아미노기를 추가하면 L-aspartic acid가 생성된다. 실제 공업적으로 aspartic acid는 효소 aspartase를 가지고 있는 균체(*E. coli*)를 고정화(균체를  $\kappa$ -carrageenan으로 포괄한 후, glutaraldehyde와 hexamethylenediamine으로 가교한 고정화법, 효소활성반감기 680일, 1978년 생산방식으로 채택)하여 제조하고 있다. 최근 저칼로리 감미료 aspartame의 주원료로 수요가 급증하여 생산량이 수천톤으로 확대되고 있는 추세이다. L-aspartic acid에  $\beta$ -decarboxylase효소를 작용시키면  $\text{CO}_2$ 가 유리되고 L-alanine이 생성된다. L-alanine도 aspartate  $\beta$ -decarboxylase를 가지고 있는

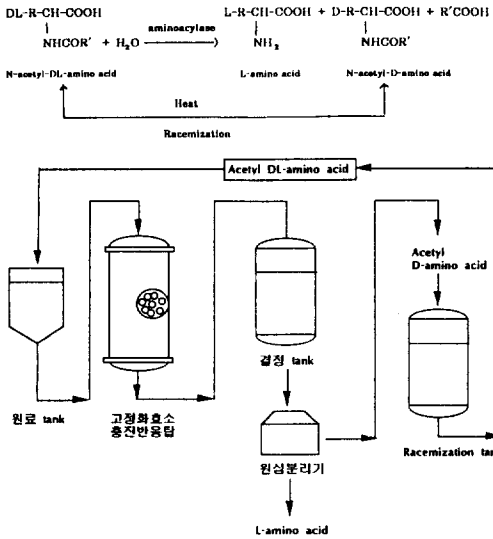


그림 1. 고정화 aminoacylase를 이용한 L-amino acid의 제조 및 공정

세균 균체(*pseudomonas dacunnae*)를 고정화법을 이용하여 제조되고 있다(11). 1982년에는 고정화균체를 이용한 aspartate와 alanine 제조법을 연결하여 fumaric acid로부터 2종류의 아미노산을 연속생산하는 생산 system이 완성되었다(12). 그림 2에 제조공정의 개요를 나타내었다. 그리고, 이와같은 고정화균체를 이용한 아미노산의 제조법으로 L-leucine 및 L-glutamic acid 등의 제조가 개발대상으로 대두되고 있는 추세이다.

3) Chemo-enzymatic process에 의한 L-lysine의 제조법

이제까지 발효법으로 독점되어졌던 L-lysine의 제조에도 화학반응과 효소반응을 조합한 반합성법에 의한 제조법이 확대되고 있다. 이와같은 새로운 제조법은 나일론원료제조 부산물로 얻어지는 cyclo-benzene으로부터 DL-aminocaprolactam (DL-ACL)을 화학합성한 후, 이것을 효소반응에 의해 L-lysine으로 전환시키는 방법이다(13). 그림 3에 나타난 것처럼 효소반응에는 2종류의 효소 L-ACL lactamase와 ACL racemase가 관여한다.

실제공업생산에는 효소를 직접 사용하지 않고 건조균체를 사용하고 있으며, 효소원과 10% DL-ACL 용액을 40°C에서 24시간 반응을 수행하면 거의 100%의 전환률로 L-lysine이 만들어지며, 분리한 L-ly-

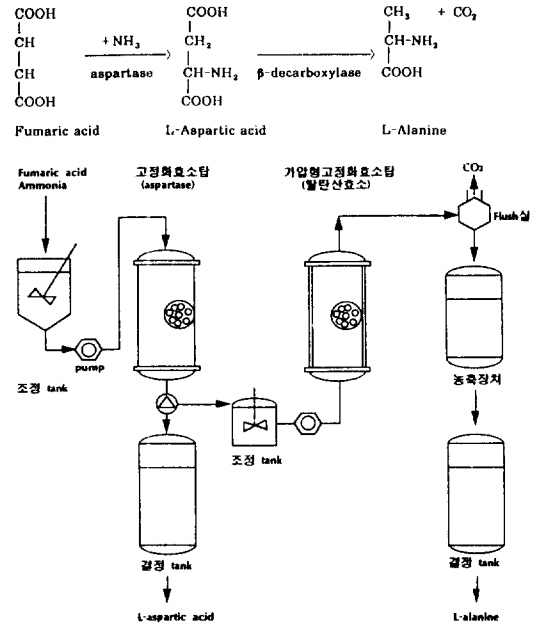


그림 2. 고정화 효소를 이용한 L-aspartic acid 와 L-alanine의 연속 제조법

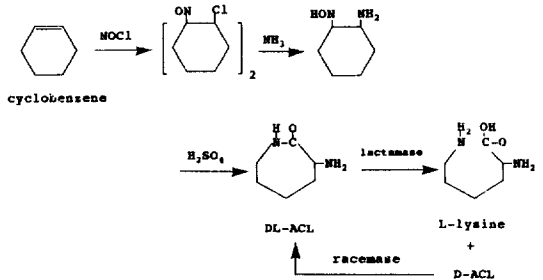


그림 3. 효소를 이용한 L-lysine의 제조법

sine 염산염의 광학순도는 99.5% 이상이다. 이와같은 새로운 제조법은 1981년부터 공업적 제조법으로 채택되어 발효법과 대등한 유력한 제조법으로 점차 발전되고 있다. 그리고, D-ACL을 원료로 하는 D-lysine의 제조법도 개발되어 아스피린의 용해성 개선제로 사용되고 있다.

4) L-Cysteine의 제조법

L-Cysteine은 머리카락 및 새털을 원료로하여 분해, 추출, 분리의 공정으로 제조되어지고 있는데, 원료공급량의 한계가 있고, 폐기물의 처리문제 등이 있어 새로운 제조법이 요망되고 있는 아미노산이다. 최근 값싼 화학합성품을 원료로한 효소 합성법이

표 1 주요 아미노산의 생산량과 제조법 및 용도(1985년)

아미노산	세계생산량(톤)	일본생산량(톤)	국내생산량(톤)	제조법	용도
L-Glutamic acid	340,000	80,000	68,600	발효법	식품·의약품
DL-Methionine	250,000	30,000		합성법	사료·의약품·화장품
L-Lysine	70,000	30,000	7,195	발효법·효소법	사료·식품·의약품
Glycine	6,000	3,500		합성법	식품·의약품·화장품
L-Aspartic acid	4,000	2,000		효소법	식품·의약품·화장품
L-Phenylalanine	3,000	1,500		발효법, DL분획	식품·의약품
L,DL-Alanine	3,000	2,000		합성법, 효소법	식품·의약품
L-Cysteine	1,000	300		효소법, 추출법	의료품·화장품·식품
L-Arginine	1,000	700		발효법, 추출법	의약품·화장품·식품

\* 세계생산량 1000톤 이상의 아미노산만 표시하였음 (tryptophan, threonine, valine, leucine, isoleucine, histidine, proline, serine, tyrosine 등의 생산량은 대략 수백톤 정도임).

\* 세계 생산량과 일본생산량 및 국내생산량을 비교하기 위하여 1985년도 통계수치를 이용하였으며, 참고적으로 1992년 국내 주요 아미노산의 생산량은 L-glutamic acid가 90,000톤, L-lysine은 28,000톤이며, phenylalanine은 1988년도부터 생산하기 시작하여 현재 50톤 정도 생산하고 있음.

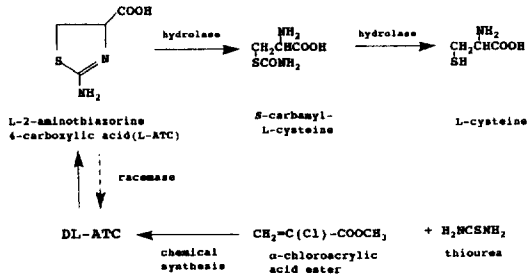


그림 4. 효소를 이용한 L-cysteine의 제조법

Ajinomoto사에 의해 개발되어 대량공급의 길이 열리게 되었다.

이와같은 새로운 제조법은 우선 α,β-dichloropropionic acid 에스테르를 알칼리용액에서 α-chloroacrylic acid 에스테르로 전환시켜 출발원료로 사용한다. 계속해서 그림 4에서 보는 바와같이 α-chloroacrylic acid 에스테르와 thiourea로부터 DL-aminothiazorine carboxylic acid를 화학합성하여 계속해서 ATC racemase와 2종류의 hydrolyase에 의해 효소 반응을 진행하면 거의 100%의 몰수율로 L-cysteine이 만들어진다.

실제 공업적 생산에는 이와같은 3종류 효소를 함유하고 세균균체(*Pseudomonas thiazolinophilum*)를 사용하여 상기의 부제합성을 수행하고 있다. 이와같은 제조법은 1982년부터 공업화생산이 채택되어

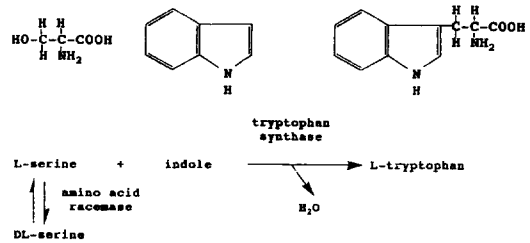


그림 5. 효소를 이용한 L-tryptophan의 제조법

L-cysteine의 안정공급에 기여하고 있다. 또한, 이와같은 방법은 거담체로 사용되고 있는 S-carboxyl-methyl-L-cysteine의 제조에도 적용되고 있다(14).

### 5) L-Tryptophan의 제조법

가축사료첨가용으로 사용되는 아미노산은 methionine, lysine, tryptophan, threonine이며, 이와같은 아미노산 첨가유무는 사료의 가격을 결정하는 요인중의 하나이다. DL-methionine(화학합성법)과 L-lysine(발효법 및 반합성법)은 cost-down에 성공하여 대량으로 사료에 배합되고 있으나 tryptophan은 아직도 생산가격이 높아 사료용으로는 사용할 수가 없었다. 그러나, 최근 매우 효율이 높은 제조법이 계속해서 개발되어 사료용으로서의 L-tryptophan의 수요가 기대되고 있다.

첫번째, 새로운 제조법은 화학합성법으로 제조한 indole과 DL-serine을 원료로 사용하여 효소 trypto-

phan synthase의 작용에 의해 L-tryptophan을 합성하는 방법(15)이다(그림 5). DL-serine 대신에  $\beta$ -chloro-L-alanine을 사용하는 개량법(16)도 개발되고 있다. 재조합 DNA기술로 tryptophan synthase가 대량생산되는 *E. coli*를 이용하여 현재 Mitsui Toatsu Chemical사(1983년)과 Mitsui Petrochemical사(1987년)에서 기업화되고 있다.

두번째, 새로운 제조법은 미생물의 생합성 경로의 중간체를 화학합성하여 이것을 출발물질로한 발효법으로 L-tryptophan을 생합성하는 방법이다. 이와 같은 전구체 발효법은 현재 Showa Denko사(1982)와 Sanraku사에 의해 실시되고 있다.

1990년도 L-tryptophan의 세계시장은 300~400톤이며, 이중에서 250톤이 현재 일본에서 제조되고 있다. L-tryptophan은 건강보조식품(의약품 외), 수액 등의 의약품과 사료첨가물로 사용되고 있으며, 현재 가격은 의약용으로 90~180\$/kg, 사료용으로 60\$/kg 정도로 아직도 가격이 높은 아미노산으로 cost-down이 요구되고 있는 아미노산이다. 사료첨가용으로서의 L-tryptophan의 잠재수요는 약 1만톤으로 예측되고 있으며, kg당 20\$ 정도로 cost-down되면 lysine 다음으로 주요 대량생산 아미노산으로 성장이 기대되고 있다.

### 3. 결 론

우리나라에서 생산되는 아미노산은 L-glutamic acid, lysine, phenylalanine, glutamine 등 특정 몇 가지 아미노산만 집중 생산되어 내수판매 및 해외로 수출되고 있다. 그리고 아미노산의 생산기술도 전통적인 발효법에만 의존하고 있는 상태이다. 따라서, 생물촉매법에 의한 아미노산의 새로운 제조기술은 각종 연관 아미노산화합물을 동일공정으로 동시에 제조할 수 있는 대단히 유리한 장점을 지니고 있어, 국내 기존 의약 및 화학산업과 국내 여건의 기반조사 및 연계를 통한 cost-down 연구와 동시에 수행된다면 국내 아미노산 산업의 성장 및 확대에 견인차 역할을 하리라 판단된다.

### 참고문헌

1. 임번삼, 아미노산발효공업의 연구개발현황, 한국식품과학회, 93(1988).
2. 최홍규, 황이남, 아미노산공업의 현황과 전망 (한국산업미생물학회 20년사), 한국산업미생물학회, 121(1993).
3. 相田 浩ほか, Amino酸發酵研究の發展と展望 (Amino酸發酵), 學會出版center, 3(1986).
4. Chibata, I., T. Tosa, T. Sato, and T. Mori, *Methods Enzymol.* **44**, 746(1976).
5. 山田秀明ほか, Hybrid process總論(Hybrid processによる有用物質生産), 化學増刊 **119**, 3(1991).
6. 福井三郎ほか, 酵素法によるamino酸の合成(酵素の新機能開發), 講談社, 5(1991).
7. 野本正雄, Amino酸の新しい製造法(酵素工學), 學會出版center, 171(1993).
8. Tosa, T., T. Mori, and I. Chibata, *Agric. Biol. Chem.* **33**, 1053(1969).
9. Tosa, T., T. Mori, N. Fuse, and I. Chibata, *Biotechnol. Bioeng.* **9**, 603(1967).
10. Tosa, T., T. Mori, N. Fuse, and I. Chibata, *Agric. Biol. Chem.* **33**, 1047(1969).
11. 千畑一郎ほか, 固定化生體觸媒による有用物質生産(Biotechnologyの新展開), 化學増刊 **103**, 163(1984).
12. 千畑一郎ほか, Bioreactor利用の現況と展望, *Bio-industry* **1**, 24(1984).
13. 稻村 隆ほか, 酵素による L-lysine製造法の開發, 農化 **54**, 582(1980).
14. 佐野孝之輔ほか, "L-cysteineの新製造法の開發と工業化, 1985年度日農化大會講演要旨集, p. 776; 受賞講演要旨集, p. 10(1985).
15. Ishiwata, K., N. Fukuhara, M. Shimada, N. Makiguchi, and K. Soda, *Biotech. Appl. Bichem.* **12**, 141(1990).
16. 長澤 透ほか, " $\beta$ -chloroalanineを用いたamino酸の酵素合成(Biotechnologyの新展開), 化學増刊 **103**, 107(1984).