

효소의 새로운 이용분야와 그 전망

서울대학교 식품공학과 박 관 화



서 언

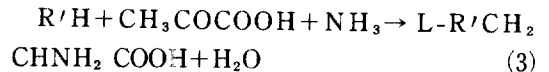
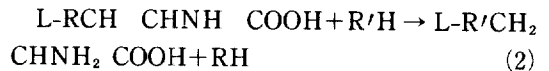
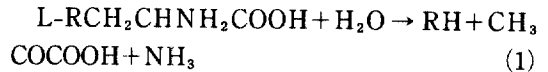
최근들어 미생물 이용에 관한 연구가 활발해지면서 많은 진보가 있었다. 미생물반응을 촉매하는 효소는 각종 공업생산물, 식품공업 및 의료에 응용되고 있는데 특히 특이성이 높기 때문에 특수성분의 생산, 계측 및 성분의 분석수단에 다방면으로 이용되고 있다. 그러나 이용분야가 넓고 다양한 점에 비하여 현재까지 공업적으로 사용되고 있는 효소의 종류는 그리 많지 않다. 더구나 미생물이 생산하는 효소는 생산성 및 안정성 때문에 이용이 제한되어 있으며 현재에는 20여종에 불과하다. 지금까지 산업적으로 이용되지 않고 있는 효소는 1) 효소를 생산하는 미생물의 안정성 문제 2) 미생물효소의 생산성이 낮거나 3) 효소의 특성이 구명되지 않아 용도의 개발이 늦어지고 있기 때문이다. 따라서 유전자조작을 통한 생산성 및 안정성 문제의 해결, Bioreactor 기술 개발로 생산성의 증대 등으로 효소의 산업적 응용을 가능하게 하리라 본다. 한편으로는 효소를 분리하여 여러가지 특성을 구명한다면 새로운 효소를 발견하고 또한 새로운 용도를 개발할 수 있을 것이다.

1. 아미노산의 합성

미생물이나 효소에 의한 아미노산의 생산이 산업적으로 가능할 것으로 기대된다. 현재 사용되는 화학적 합성법이나 단백질 가수분해법에 비하여 생물공학적인 방법은 광학적으로 활성이 있는 L-form 아미노산을 생산할 수 있기 때문에 유리하다. 최근들어 효소 및 세포의 고정화법을 이용하여 아미노산을 생산하는 연구가 급격히 발전하였다.

Yamada(1)는 β -tyrosinase의 여러가지 기능성에 대하여 연구하고 L-tyrosine 유도체를 합성

할 수 있음을 시사하였다. 즉 다음 반응식 (1)과 같이 L-tyrosine의 분해반응(α, β -이탈반응)을 촉매하여 제2의 기질로 phenol과 같은 유도체를 가하면 반응식 (2)과 같이 β -치환반응이 일어나서 L-tyrosine 유도체가 생긴다. 한편 반응식 (3)과 같이 합성반응인 α, β -이탈반응의 역반응이 진행된다.



이상과 같은 β -tyrosinase의 다기능성과 유사한 것으로 *Proteus rettgeri*의 tryptophanase가 발견되었는데 이 효소를 이용하여 각종의 L-tryptophan 유도체를 합성할 수 있게 되었다(2, 3, 4). 이밖에 이와같은 방법으로 여러가지 생리활성 아미노산의 공업적 생산이 가능하게 되었다. Table 1에는 효소에 의한 아미노산의 생산에 관한 예를 들어보았다.

2. Cyclodextrin의 생산

Cyclomaltodextrin glucanotransferase (CGTase)(5, 6): 액화시킨 전분에 CGTase를 작용시키면 glucose가 6-12개 모여 환상구조가 형성되어 cyclodextrin이 된다. 즉 전분에 α -amylase를 처리한 다음 CGTase를 작용시키면 α, β 및 α -cyclodextrin이 생성되는데 6, 7 및 8개의 glucopyranose 단위로 되어 있으며 1, 4-결합으로 환상구조를 가진다(Fig. 1).

Cyclodextrin은 구조에서 볼 수 있듯이 분자의 내부에 공동을 가지고 있어 유기 및 무기화합물을

Table 1. 효소에 의한 아미노산 생산.

Amino acid	Enzyme (source)	Yield	
		g/liter	mol %
L-Tyrosine	β -Tyrosinase (<i>Erwinia herbicola</i>)	61	
L-DOPA	"	53	
L-Tryptophan	Tryptophanase (<i>Proteus rettgeri</i>)	100	(95)
L-Cysteine	Cysteine desulfhydrase (<i>E. cloacae</i>)	50	(86)
"	Cysteine synthase (<i>B. sphaericus</i>)	70	(82)
D-Cysteine	β -Chloro-D-alanine lyase (<i>P. putida</i>)	22	(88)
L-Cystathionine	Cystathionine γ -synthase (<i>B. sphaericus</i>)	37	(83)
L-Serine	Serine transhydroxymethylase (<i>Hyphamicrobium sp.</i>)	35	(25)

from Ref. (1).

포접할 수 있다. 이러한 특성은 향기성분의 보존, 지속적으로 서서히 약 효과가 나타나는 등 식품, 의약계에 이용가치가 높은 것으로 판단되며 현재 시장규모는 매년 100%의 증가를 보이고 있다. CGTase를 분비하는 미생물로는 *Bacillus macerans* 등 주로 *Bacillus*속이 분비하는 것으로 알려져 있다 (Tab. 2). 본 효소는 학문적인 중요성은 물론이며 공업적으로 다양한 응용성을 지니고 있어 미생물균주의 개량 및 효소의 특성연구가 더욱 활발해 질 것으로 생각된다.

3. 감미료 제조

Fructosyl transferase : 곰팡이가 분비하는 fructosyl transferase는 sucrose에 작용하여 sucrose에 fructose가 2-4개 정도 m(2→1) 결합된 감미료(일명 Neosugar)를 생성한다(7). 화학

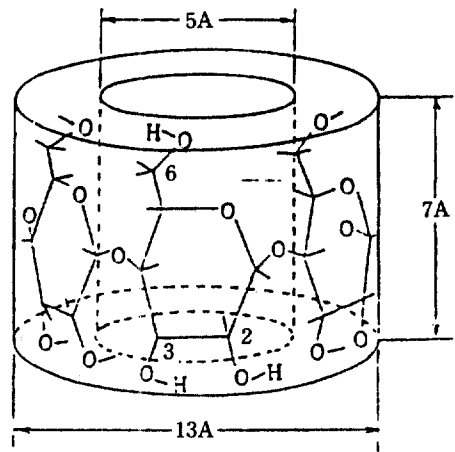


Fig. 1. Structure of α -cyclodextrin.

Table 2. Properties of CGTases from microorganisms

	Optimum pH	Stable pH	Yield (%)
<i>Bacillus macerans</i>	5.0-5.7	9.0-10.0	50
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5.2	-	-
<i>Bacillus stearthermophilus</i>	5.0-5.5	5.5-8.8	50
<i>Bacillus megaterium</i>	5.0-5.7	7.0-10.0	62
<i>Bacillus circulans</i>	5.2-6.1	7.5-9.0	-
<i>Bacillus No. 38-2</i>	4.5-9.0	6.0-10.0	75-85

from Ref. (5).

구조는 GF₂, GF₃ 및 GF₄로 알려져 있는데 Fig. 2와 같다. Neosugar는 sucrose의 0.4-0.6배의 감미도를 갖고 있으며 영양가치가 없기 때문에 특히 주목을 끌고 있다. GF₂와 GF₃는 효소에 의해 분해되지 않는 것으로 쥐의 임상실험에서 밝혀졌다.

4. Flavor 효소

식품을 가열 건조하게 되면 flavor 성분이 휘발하게 되어 가공에 의해 품질이 저하되는 경우가 많다. 이와같은 가공식품에 효소를 처리하여 신선한 flavor를 복원할 수 있다(8). 즉 가열에 의하여 flavor 성분은 휘발되고 flavor 생성에 관여하는 효소도 불활성화 된다. 그러나 내열성이며 불휘발성인 flavor의 전구물질은 가공후에도 식품중에 잔존하게 되며 별도로 조제한 효소를 가공후에 식품에 첨가하면 잔존된 전구물질과 작용하여 신선한 flavor가 재생된다. 이와같이 flavor 효소를 이용하여 cabbage, 와사비, 양파, 야채, Raspberry 도마도즙, 바나나푸레 등에서 flavor 보강에 성공하였다. 이때 사용되는 효소원으로는 처리 대상식품과 동일한 미가열된 재료가 이상적이나 식품의 가식부가 아닌 부위에서 효소를 추출하기도 한다. 또한 미생물효소를 이용할 수 있는데 이에 대한 개발이 최근 시도되고 있다. 몇가지 장내세균에 thioglucosidase가 존재함이 확인되었다. 동

물에 glucosinolate가 함유된 사료를 투여했을 때 glucosinolate가 장내에서 분해되었다. *Aspergillus sydowii*를 glucosinolate가 함유된 배지에 배양하면 배지중에 특이성이 높은 thioglucosidase가 분비되었다.

A. niger 및 기타 미생물 균체로부터 thioglucosidase가 분리되었다. 그러나 식물체로부터 기원된 thioglucosidase와는 그 성질이 다를 수 있었다.

5. 효소를 이용한 성분분석 및 임상진단 분석

효소의 특이성을 이용하여 특수한 성분의 분석이 용이하다. 예를 들면 혈액중의 glucose만을 정량하기 위하여 glucose oxidase-peroxidase system을 이용하고 있는 것은 대표적인 예이다. Acetyl-CoA synthetase와 acyl-CoA oxidase를 이용하여 혈액중의 유리지방산을 정량(9)하는 법도 이미 실용화되어 널리 사용되고 있다.

5-1. 식품 성분분석 및 임상진단 분석

효소를 이용한 분석은 특이성과 정량 방법이 용이하기 때문에 널리 쓰일 것으로 기대된다. 예를 들면 D-및 L-lactate의 정량이 화학적인 방법으로는 불가능하나 효소를 이용하면 정량이 가능하다. 현재로는 효소가 사용되므로 값이 비싼 것이 흠이나 밀리그램 단위의 효소가 필요하게 되므로 이러한 문제점은 해결되리라 본다. Table 3에는 식품에서 성분분석에 사용될 때 경제성을 예로 들어 보았다.

Table 3. Comparison of the costs of chemical and enzymatic methods of analysis in food chemistry (Figures in DM).

	chemical method	enzymatic method
	Glucose	Glucose + Fructose
Reagents	0.84	2.64
Working time	10.50	1.00
Total	11.34	3.64
	Citrate in wine	Citrate in wine
Reagents	1.22	1.76
Working time	24.00	1.00
Total	25.22	3.76

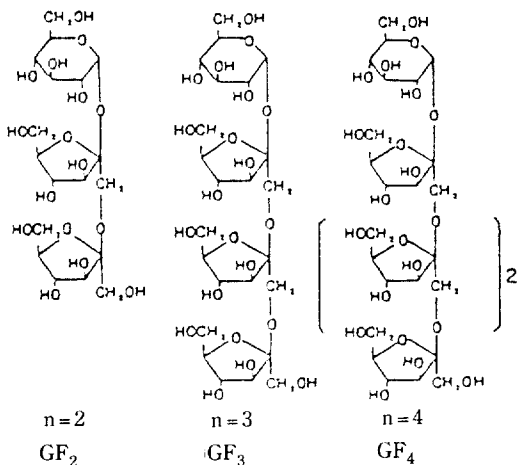


Fig. 2. Neosugar, enzymatically produced from sucrose.

최근들어 식품에 존재하는 성분의 정량에 효소법이 많이 이용되고 있다. 탄수화물로는 mono-, di- 및 polysaccharide의 정량, citrate, isocitrate, malate, D- 및 L-lactate와 같은 유기산, ethanol, glycerol 및 sorbitol과 같은 alcohol의 정량, 육류식품 중에 존재하는 creatinine 및 creatine의 정량 등에 사용하고 있으며 이 방면의 이용이 점차 늘어나고 있다. 다음 Table 4에는 몇가지 대표적인 분석용 효소를 적어 놓았다. 특히 임상진단에는 효소정량법이 중요한 의미를 지니게 되었다. 병증세가 있으면 어느 특정효소의 역가가 증가하여 진단의 수단으로 이용이 가능하며 또한 혈액중의 glucose, triglyceride, cholesterol, uric acid, urea 등의 정량이 가능하다. 이밖에 enzyme immunoassay에 의해 갑상선의 기능, steroid hormone, insulin, immunoglobulin 등을 정량할 수 있다.

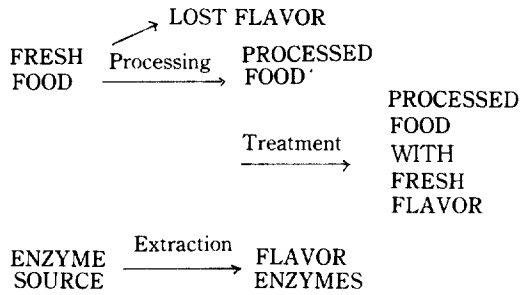


Fig.3. 가공식품에서의 flavor 재생(Ref. (8)).

Table 4. 분석에 유용한 미생물 효소.

Enzyme	Source	Use
Acyl-CoA synthetase (long chain)	<i>P. aeruginosa</i>	FFA
Acyl-CoA oxidase	<i>C. tropicalis</i>	FFA
Choline oxidase	<i>C. didymum</i>	Phospholipid
Sarcosine oxidase	<i>C. didymum</i>	Creatinine
Glycerol dehydrogenase	<i>Cellulomonas</i> sp.	Triglyceride
Amine oxidase	<i>A. niger</i>	Amine
Polyamine oxidase	<i>P. chrysogenum</i>	Polyamine
Tyramine oxidase	<i>S. lutea</i>	Amine
Biotinyl-CoA synthetase	<i>Micoplan a</i> sp.	Biotin
Peroxidase	Fungus	H ₂ O ₂

from Ref. (1).

5-2. 효소면역 분석법

효소를 이용한 면역분석법(enzyme immunoassay; EIA)은 조제하기가 용이하고, 가격이 저렴하며, 비교적 안정하여 저장기간이 길기 때문에 기타 면역분석법에 비하여 유리하다(10). 최근 식품에서 *Salmonella*의 검출 및 aflatoxin의 검출에 이용이 되고 있으며 이미 효소 immunoreagent제품이 시중에 판매되고 있다. antigen이나 antibody의 labeling에 사용되는 효소로는 horseradish peroxidase, alkaline phosphatase 및 β -galactosidase 등이 알려져 있다. 미생물 발효과정중에 생성되는 cellulase complex중에서 cellobiohydrolase만을 선택적으로 정량하는 방법(11)이 개발되어 발효 공정의 최적화에 기여하였다.

5-3. Thermal detector(12)

효소반응에서 발생 또는 흡수된 열을 측정하는 방법으로 고정화 효소를 온도감지장치가 부착된 column에 채우고 기질을 흘려보내면서 발생한 열을 측정한다. 이 방법은 반응액의 색변화등에 구애받지 않고 모든 효소반응을 측정할 수 있어 유리하다. 한 가지 예로 enzyme thermistor system (Fig. 4)을 들 수 있다. 0.2-1.0 ml들이 plastic column에 고정화효소를 넣고 column의 맨 윗부분에 유리로 싼 thermistor를 장치한다. 펌프로 완충액을 연속적으로 보내어 열교환기에서 가열되고 이 때 온도오차 범위가 $\pm 0.01^{\circ}\text{C}$ 정도 되도

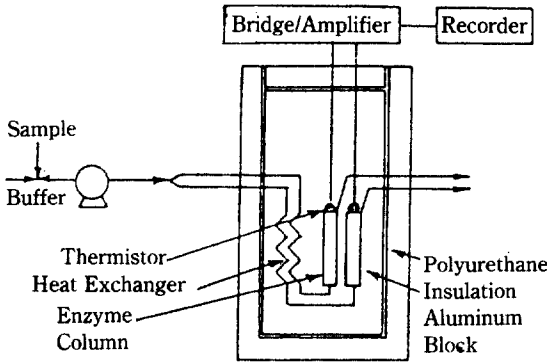


Fig. 4. Schematic representation of an enzyme thermistor system.

록 한다. 온도 감지는 0.02°C의 범위에 100 mV signal이 나오도록 조정한다. 2개의 column중에 한 개는 고정화 효소가 들어있고 다른 한개는 reference column으로 하여 두 column을 통과한 용액 온도차이를 감지하여 분석하는 방법이다. 임상용 분석, 면역학적인 분석, 발효 및 생물공정의 제어 등에 사용되는데 Tab. 5에 대표적인 예를 들었다.

6. 기 타

Bilirubin oxidase: 4개의 pyrrole ring을 가지고 있는 bilirubin을 산화하여 탈색시키는 것으로 알려진 효소로 *Myrothecium verrucaria*에서 발견되었다. 분자량 52000, pI 4.1로 Cu원자를 가지고 있는 산화효소이다. 사람 및 가축의 배설물(분뇨)처리액을 탈색시키는 효과가 있어 이 방면에 응용이 기대된다. 왜냐하면 현재 사용되고 있는 처리 방법인 오존산화법 및 활성탄처리법에도 불편한 점이 많기 때문이다.

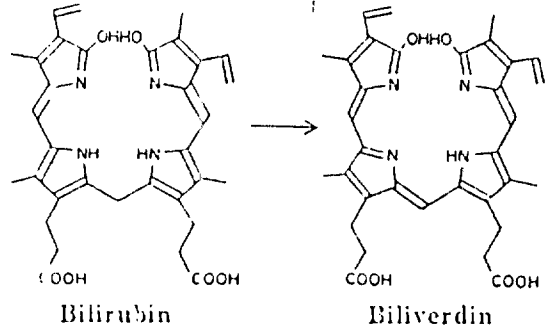


Table 5. Applications of Thermal Detectors

Substance	Immobilized biocatalyst	Range (mM)
Albumin	Immobilized antibodies + enzyme-linked antigen	10 ⁻⁷ - 10 ⁻⁵
Ascorbic acid	Ascorbate oxidase	0.05-0.6
Cellobiose	β-Glucosidase + glucose oxidase/catalase	0.05-5
Cholesterol	Cholesterol oxidase	0.03 - 0.15
Creatinine	Creatinine iminohydrolase	0.01-10
Ethanol	Alcohol oxidase	0.01-1
Galactose	Galactose oxidase	0.01-1
Gentamicin	Immobilized antibodies + enzyme-linked antigen	0.1ug/ml (detection)
Glucose	Glucose oxidase	0.002-1.0
	Glucose oxidase/catalase	0.002-0.8
Insecticides	Acetylcholinesterase	5 × 10 ⁻³ - 10 ⁻²
Insulin	Immobilized antibodies/enzyme-linked antigen	0.1-1.0U/ml
Lactose	Lactase/glucose oxidase/catalase	0.05-10
Penicilline G	Penicillinase	0.01-500
Triglycerides	Lipase, lipoprotein	0.1-5
Tyrosine	Tyrosinase-albumin-Ab	0.1-1

REFERENCES

1. H. Yamada: *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, **60**, 609 (1986).
2. H. Yoshida, H. Kumagai and H. Yamada: *FEBS Lett.*, **48**, 56 (1974).
3. H. Yoshida, H. Kumagai and H. Yamada: *Agric. Biol. Chem.*, **38**, 2065 (1974).
4. T. Nagasawa, T. Utagawa, J. Goto, C. Kim, Y. Tani, H. Kumagai and H. Yamada: *Eur. J. Biochem.*, **117**, 33 (1981).
5. H. Horikoshi: *Process Biochem.*, **May**, 26 (1979).
6. K. Hara and H. Hashimoto: *J. Jpn. Soc. Starch Sci.* **33**, 152 (1986).
7. J.D. Dziezak: *Food Technol.* **112 Jan.** (1986).
8. E.J. Hewitt and T. Hasselstrom: US pat 2924521 (1960).
9. S. Shimizu, Y. Yasui, Y. Tani and H. Yamada: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **91**, 108 (1979).
10. B. Swaminathan, J.A.G. Aleixo and S.A. Minnich: *Food Technol*, **83**, *March* (1985).
11. 오태광: 박사학위 논문, 서울대학교(1986).
12. G.G. Guilbault: "Analytical uses of immobilized enzymes." Marcel Dekker, N.Y. and Basel (1984).

<page 43에서 계속>

研究投資能力이 있는 財閥級 회사는 자체 연구인력의 活用 또는 大學 및 政府出捐 研究機關을 利用하는 研究開發 投資에 注力하고, 이로부터 얻어지는 成功的 研究結果를 産業化함에 있어 실제 生産 과정은 中小企業이 담당하는 이른바 研究開發-製品 生産의 二元化 分業體제도 전체 효소공업의 육성이라는 側面에서 고려해볼만 하다고 판단된다. 물론 이 경우 그 中小企業이 大企業의 下請工場 정도로 예측화되는 것이 아니라, 相互補完的, 有機的 結束關係를 유지할 수 있도록 制度的 뒷받침이 우선 마련되어야 할 것임은 더 말할 것도 없다.

(4) 外國과의 競爭能力確保

生命工學 製品의 개발에 있어서 부딪치는 많은 문제점들 중에서도 특히 산업적 側面에서 중요한 것은 外國技術과의 경쟁력이다. 대부분의 生命工學 제품이 大量生産 技術의 확립에 의해 世界市場

의 獨點을 목표로 開發되므로 後發國의 市場진출은 先發國의 덤핑 때문에 큰 시련을 겪게 마련인 것이다. 이와같은 문제의 궁극적인 해결책도 결국은 比較優位의 高度技術의 확립밖에는 없다 하겠으나, 이와같은 目的을 위해 國內 自體의 菌株·遺傳子 銀行의 設置 운영, 新製品 開發에 대한 인센티브 부여 등 間接的 支援體制的 確立도 시급히 마련되어야 할 정책들이라고 생각된다.

이상에서 논의한 바와 같이 酵素工學의 育成을 위해서는 시급히 갖추어져야 할 制度的, 政策的 장치가 아직도 많이 있으나 기본적으로는 우리나라의 生命工學 관련산업의 발달이 바로 酵素工學 育成의 關健이 된다고 하겠다. 이를 위해서 國內의 관련기업은 물론 이 분야에 몸담고 있는 科學技術 人的 努力 실로 요긴하다함은 두말할 필요가 없을 것이다.