

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구  
국제사무국



(43) 국제공개일  
2010년 9월 2일 (02.09.2010)

PCT

(10) 국제공개번호  
WO 2010/098632 A2

- (51) 국제특허분류: C07K 1/02 (2006.01) C12P 13/12 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2010/001254
- (22) 국제출원일: 2010년 2월 26일 (26.02.2010)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보: 10-2009-0016605 2009년 2월 27일 (27.02.2009) KR
- (71) 출원인 (US 을(를) 제외한 모든 지정국에 대하여): 씨제이제일제당 주식회사 (CJ CHEILJEDANG CORPORATION) [KR/KR]; 서울 중구 남대문로 5가 500, 100-749 Seoul (KR).
- (72) 발명자; 겸
- (75) 발명자/출원인 (US 에 한하여): 김소영 (KIM, So Young) [KR/KR]; 경기 과천시 부림동 주공아파트 908동 305호, 427-736 Gyeonggi-do (KR). 신용욱 (SHIN, Yong Uk) [KR/KR]; 경기 용인시 수지구 죽전 1동 현대홈타운 4차 3단지아파트 433동 902호, 448-972 Gyeonggi-do (KR). 허인경 (HEO, In Kyung) [KR/KR]; 서울 강서구 등촌1동 트라비하우스 101동 1311호, 157-031 Seoul (KR). 김현아 (KIM, Hyun Ah) [KR/KR]; 전북 남원시 대신면 신계리 138번지,

590-972 Jeollabuk-do (KR). 김주은 (KIM, Ju Eun) [KR/KR]; 서울 강서구 가양동 1479-9 휴먼밀오피스텔 814호, 157-200 Seoul (KR). 서창일 (SEO, Chang Il) [KR/KR]; 인천 동구 화평동 3-73번지 303호, 401-030 Incheon (KR). 손성광 (SON, Sung Kwang) [KR/KR]; 서울 노원구 중계 3동 건영 2차아파트 106동 1402호, 139-925 Seoul (KR). 이상목 (LEE, Sang Mok) [KR/KR]; 서울 강서구 내말산동 마곡수명산파크 107동 304호, 157-931 Seoul (KR). 전성후 (JHON, Sung Hoo) [KR/KR]; 서울 강서구 가양동 1461 도시개발아파트 203동 404호, 157-200 Seoul (KR). 이한진 (LEE, Han Jin) [KR/KR]; 서울 성북구 정릉 4동 대우아파트 102동 304호, 136-767 Seoul (KR). 나광호 (NA, Kwang Ho) [KR/KR]; 서울 강서구 가양 1동 도시개발아파트 2단지 308호, 157-201 Seoul (KR). 김일출 (KIM, Il Chul) [KR/KR]; 경기 성남시 분당구 금곡동 청솔마을 한라아파트 301동 904호, 463-725 Gyeonggi-do (KR).

(74) 대리인: 손민 (SON, Min); 서울 강남구 삼성동 159-9도심공항타워 6층 한얼국제특허사무소, 135-973 Seoul (KR).

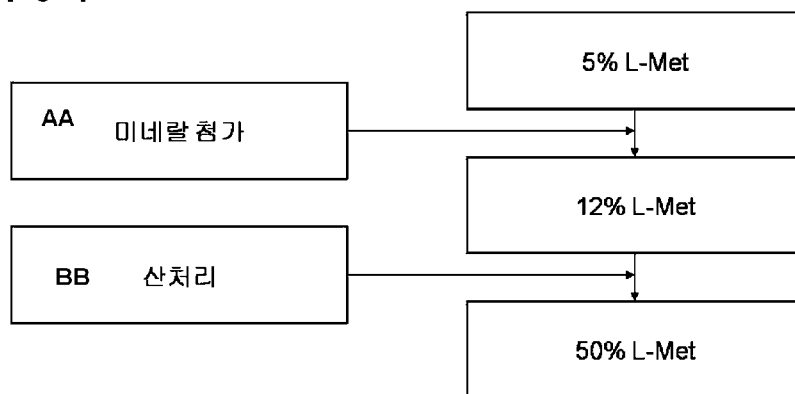
(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN,

[다음 쪽 계속]

(54) Title: METHOD FOR INCREASING THE SOLUBILITY OF METHIONINE BY MINERAL ADDITION AND ACID TREATMENT

(54) 발명의 명칭 : 미네랄 첨가와 산처리를 이용하여 메치오닌의 용해도를 증가시키는 방법

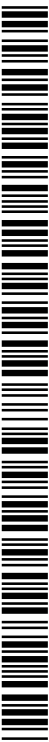
[Fig. 1]



AA ... Mineral addition  
BB ... Acid treatment

(57) Abstract: The present invention relates to a method for enhancing the solubility of methionine. More particularly, the present invention relates to a method which involves adding mineral and sulfuric acid at an appropriate ratio to enhance the solubility of methionine and to overcome the low solubility problems of methionine with regard to water, thereby increasing the solubility of methionine.

(57) 요약서: 본 발명은 메치오닌의 용해도 효율을 증진시키는 방법에 관한 것이다. 더 상세하게는, 적절한 비율로 미네랄과 황산을 첨가함으로써 메치오닌의 용해도를 향상시켜 물에 대한 메치오닌의 낮은 용해도 한계를 극복함으로써 메치오닌의 용해도를 증가시키는 방법에 관한 것이다.



WO 2010/098632 A2



HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

럽 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(84) **지정국** (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 유

**공개:**

— 국제조사보고서 없이 공개하며 보고서 접수 후 이를 별도 공개함 (규칙 48.2(g))

## 명세서

### 발명의 명칭: 미네랄 첨가와 산처리를 이용하여 메치오닌의 용해도를 증가시키는 방법

#### 기술분야

- [1] 본 발명은 메치오닌의 용해도 효율을 증가시키는 방법에 관한 것이다.  
[2]

#### 배경기술

- [3] 메치오닌은 생체내의 필수 아미노산의 한 종류로 사료 및 식품 첨가제로 널리 사용되며, 의약용으로 수액제, 의약품의 합성 원료로도 사용된다. 메치오닌은 콜린(레시틴)과 크레아틴과 같은 화합물의 전구체로 작용하며 시스테인과 타우린의 합성원료로도 쓰인다. 또한, 황을 제공하는 역할을 한다. S-아데노실-메치오닌은 L-메치오닌으로부터 유래하며 생체내에서 메틸기를 제공하는 역할을 하며 뇌의 다양한 신경전달물질(neurotransmitter) 합성에 관련되어 있다. 메치오닌 및/또는 S-아데노실-L-메치오닌(SAM)은 생체내에서 간과 동맥에서 지방축적을 억제하고 우울, 염증, 간질환, 근육통을 완화하는 등의 다양한 역할을 한다(Jeon BR et al., *J Hepatol.*, 2001 Mar; 34(3): 395-401).
- [4] 메치오닌의 화학합성은 주로 5-(β-메틸머캅토에틸)하이단토인(5-(β-methylmercaptoethyl)-hydantoin)을 가수분해시키는 반응을 통하여 L-메치오닌을 생산하는 방법을 이용한다. 그러나 이런 화학합성을 통하여 생산된 메치오닌은 L-형과 D-형이 혼합된 형태로 생산된다는 단점이 있다. 이에 본 발명자들은 생물학적 방법을 이용하여 L-메치오닌을 선택적으로 생산할 수 있는 기술을 개발하여 특허를 출원한 바 있다(WO2008/013432). 이 방법은 간편하게 2단계 공법으로 명명하며 발효에 의한 L-메치오닌 전구체 생산 공정, 및 상기 L-메치오닌 전구체를 효소에 의하여 L-메치오닌으로 전환하는 공정으로 구성되어 있다. 상기의 L-메치오닌 전구체는 바람직하게 O-아세틸호모세린과 O-숙시닐 호모세린을 포함한다. 또한 이 방법은 L-메치오닌만을 선택적으로 생산할 수 있어 DL-메치오닌을 동시에 생산하는 기존의 화학 합성 공정에 비하여 우수한 공정이며, 추가적으로 동일한 반응을 통하여 부산물로서 유기산, 보다 구체적으로는 숙신산 또는, 아세트산을 동시에 생산 할 수 있는 매우 우수한 공정이다. 상기 2단계 공법에서 얻어지는 L-메치오닌은 전구체 생산 공정에서의 미생물 발효액을 포함하고 있으며, 일반적으로 수용액 형태로 존재하게 된다.
- [5] 이때, DL-메치오닌, 또는 L-메치오닌이 수용액 내에서 나타내는 용해도는 일반적으로 5% (w/v) 수준이다. 메치오닌을 수용액으로 이용하고자 할 경우 고농도의 메치오닌 수용액 제조가 필요한 경우가 있으나 메치오닌의 낮은

용해도 때문에 고농도의 메치오닌 수용액 제조가 불가능한 단점이 있다. 고농도의 메치오닌 수용액은 사료 등의 용도로 직접 사용될 수 있으며, 저농도 대비 부피를 줄일 수 있고, 제형 변형 및 유도체 제조 등의 다양한 용도에 편리하게 이용할 수 있다.

- [6] 메치오닌의 용해도를 높이기 위한 종래의 방법으로 미네랄 또는 산처리 중 어느 하나를 사용한 방법은 개시된 바 있다. 미국 등록특허 제5430164호에는 미네랄을 이용하여 DL-메치오닌의 용해도를 12% (w/v)까지 높일 수 있음이 개시되어 있으며, Dominik Fuchs 등의 논문에서는 산처리를 이용한 경우, 특별히 pH2에서 DL-메치오닌의 용해도를 18%(w/v)로 높일 수 있음을 개시한 바 있다(Dominik Fuchs, et al., *Ind. Eng. Chem. Res.* **2006**, *45*, 6578-6584).
- [7] 미국등록특허 제5430164호에 개시된 방법은 미네랄을 이용하여 DL-메치오닌과 킬레이션(Chelation)을 시켜줌으로 해서 용해도를 높이는 방법이다. DL-메치오닌 킬레이션(Chelation)의 경우 미네랄과 DL-메치오닌의 1:1 혹은 1:2의 킬레이트 착물(Chelate complex)을 형성하는 방법으로 L-메치오닌의 용해도를 높일 수 있다. 그러나, 이는 고농도로의 DL-메치오닌 용해를 위해서 미네랄의 함량도 더불어 높아지는 단점이 있다. 구체적으로, 최대 50% 메치오닌 용액 1L 제조를 목적으로 사용되는 미네랄 사용량은 황산아연(Zinc sulfate) 3.35 M 및 염화제2철(Ferric chloride) 0.167 내지 0.569 M로 총 3.5 내지 3.9 M 정도(전체 메치오닌 용액의 39.6% 내지 49.6%)였다. 비교적 고가인 미네랄 사용량이 많은 경우 원가에 대한 부담으로 작용하므로 미네랄 사용량을 줄임으로써 대량 생산을 위한 산업화에 경제적인 효과를 나타낼 수 있다. 한편, 산처리를 이용하여 DL-메치오닌의 용해도를 높이고자 하는 방법은 제품의 강 산성화 등의 문제점이 있다.
- [8] 이에 본 발명자들은 상기와 같은 문제점을 해결하고자, 미네랄 추가 방법과 산처리 방법을 병행할 경우, 기존 사용량의 15% 정도의 미네랄을 사용하고 적정 산처리를 통해 메치오닌의 용해도를 50%로 극대화할 수 있음을 확인하고 본 발명을 완성하였다.

[9]

## 발명의 상세한 설명

### 기술적 과제

- [10] 본 발명의 목적은 미네랄 사용량을 최소화시켜 메치오닌의 용해도를 최대로 증가시키는 방법 및 이러한 방법에 따라 메치오닌의 용해도가 증가된 메치오닌 용액을 제공하는 것이다.

[11]

### 과제 해결 수단

- [12] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 하나의 양태로서, 메치오닌을 포함하는 용액에 하나 이상의 2가 금속 이온을 포함하는 미네랄을 첨가하여

반응시키는 제1단계 및 상기 제1단계에 의해 수득된 반응용액에 산을 처리하는 제2단계를 포함하는 메치오닌 용액의 용해도를 증가시키는 방법을 제공한다.

[13] 다른 하나의 양태로서, 본 발명은 상기 방법으로 메치오닌의 용해도가 증가된 고농도 메치오닌 용액을 제공한다.

[14]

[15] 이하, 본 발명의 구성을 상세히 설명한다.

[16] 본 발명은 하나의 양태로서, 메치오닌을 포함하는 용액에 하나 이상의 2가 금속 이온을 포함하는 미네랄을 첨가하여 반응시키는 제1단계 및 상기 제1단계에 의해 수득된 반응용액에 산을 처리하는 제2단계를 포함하는 메치오닌 용액의 용해도를 증가시키는 방법을 제공한다.

[17]

[18] 본 발명의 기술적 특징은 2가 금속이온을 이용한 킬레이팅 및 산처리에 의한 pH 저하의 방법을 복합적으로 사용하여, 기존의 방법에 비해 고농도의 메치오닌 용액을 제조하기 위한 금속이온의 사용량을 현저하게 줄인다는 것이다.

[19]

[20] 본 발명의 구체적 실시 양태에서, 메치오닌을 포함하는 용액은 DL-메치오닌 또는 L-메치오닌을 포함하는 용액일 수 있다. 본 발명의 또 다른 구체적 실시 양태에서, 메치오닌을 포함하는 용액은 발효 또는 효소전환법으로 생산한 L-메치오닌을 포함한 용액, 또는 이를 정제, 농축 또는 건조 공정을 이용하여 제작된 L-메치오닌 농축액을 사용하거나, 또는 L-메치오닌 건조물을 재용해하여 사용할 수 있고, 이때 L-메치오닌의 순도는 10% 에서 100% 일 수 있다. 본 발명의 구체적인 실시 양태에서, L-메치오닌은 종래 특허문헌인 국제특허 제WO2008/013432호에 명기된 바대로, 제작된 미생물 균주를 이용하여 발효 후, 효소 전환 반응을 이용하여 생산한 L-메치오닌을 이용하였다. 본 발명의 구체적인 실시 양태에서, L-메치오닌은 상기의 발효 후 효소 전환 반응법을 이용하여 생산한 후, 유동층 과립기를 이용하여 분말 과립 형태의 건조물로 회수하여 사용하였으며, 분말 과립 형태의 L-메치오닌의 순도는 약 60% 였다.

[21] 상기의 발효 및 효소전환법으로 생산한 L-메치오닌을 포함하는 용액에서 L-메치오닌의 용해도는 35%까지 향상될 수 있었다. 발효 및 효소전환법으로 생산한 L-메치오닌을 포함하는 용액에는 L-메치오닌 이외의 불순물 함량이 높아 용해도가 90% 이상의 순도를 가진 메치오닌에 대비하여 낮은 것으로 추정된다. 따라서 메치오닌의 순도가 높아짐에 따라 메치오닌의 용해도는 35%에서 50%까지 향상될 수 있다. 본 발명의 구체적인 실시 양태에서, 발효 및 효소전환법으로 생산한 L-메치오닌으로부터 정제되어 순도 99% 이상을 확인한 L-메치오닌을 이용한 경우, 상기의 Sigma 사로부터 구매한 순도 99% 의 L-메치오닌과 동일한 실험 결과를 보임을 확인하였다.

[22]

[23] 본 발명에서, 2가 금속 이온은  $Fe^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  및  $Zn^{2+}$ 으로 이루어진

군으로부터 선택될 수 있으며, 바람직하게는  $Fe^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$  및  $Zn^{2+}$ 으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[24]

[25] 상기 2가 금속이온을 포함하는 미네랄은 황화철, 황화망간 및 황화아연으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상을 사용할 수 있고, 더욱 바람직하게는 분자량이 적은 미네랄을 사용할 수 있다. 상기 미네랄은 단독 또는 2 개 이상을 혼합하여 사용할 수 있으며, 분자량이 큰 미네랄 및 가격이 비싼 미네랄의 사용량을 최소화하는 것이 더욱 바람직할 수 있다. 상기 미네랄의 사용량은 총 메치오닌 용액 부피의 1 내지 10%이며, 더욱 바람직하게는 2 내지 8%, 가장 바람직하게는 3 내지 6% 일 수 있다.

[26]

[27] 본 발명에서, 산처리는 메치오닌을 포함하는 용액에 산을 바람직하기로는 0.01 내지 0.5 M이 되게 처리할 수 있고, 더욱 바람직하게는 0.05 내지 0.4 M, 가장 바람직하게는 0.1 M일 수 있다. 본 발명의 구체적인 실시예에서는 0.1 M을 사용하였다. 본 발명에서, 상기 산으로 황산을 사용할 수 있으나 이에 제한되지 않는다.

[28]

본원 발명의 구체적인 실시예에서는 다양한 순도의 메치오닌을 대상으로 1.88% 내지 최대 8.43%의 미네랄을 사용함으로써, 35 내지 50%의 메치오닌 용액을 제조할 수 있었다(표 1 참조). 또한, 상기 미네랄을 단독으로 사용한 경우보다 두 개 이상을 혼합하여 사용한 경우에, 미네랄의 총 투입량이 더욱 줄어든 것을 확인하였다(표 1 참조). 이와 같이 본 발명은 필요한 미네랄의 양을 최소화하여 메치오닌의 용해도를 향상시킨 상태에서, 이후 산처리를 통해 일반적으로 알려져 있는 물에 대한 메치오닌의 용해도를 10배 정도 이상으로 극대화시킬 수 있다.

[29]

[30] 다른 하나의 양태로서, 본 발명은 상기 방법으로 메치오닌의 용해도가 증가된 고농도 메치오닌 용액을 제공한다.

[31]

상기 메치오닌 용액은 별도의 정제과정을 거쳐 정제된 후 건조된 분말 형태이거나 수용액에 용해되어 있는 용액 상태일 수 있다.

[32]

[33] 본 발명에 따라 미네랄을 첨가한 후 다시 산처리하는 방법은 미네랄 첨가 또는 산처리를 개별적으로 수행하는 종래의 방법에 비하여 미네랄의 과다 사용 및 산처리를 통한 제품의 강 산성화의 문제점 없이 메치오닌 용해도를 임계적으로 향상시킬 수 있으며 이와 같이 생산된 메치오닌 용액은 사료 및 식품 첨가제, 의약품 및 의약품의 원료 등의 다양한 분야에 널리 사용할 수 있다.

[34]

**발명의 효과**

[35] 본 발명의 방법으로 미네랄의 사용량을 최소화하고, 다양한 미네랄을 사용하면서 고농도의 메치오닌 용액을 제조함으로써, 상기 고농도 메치오닌 용액은 사료 등의 용도로 직접 사용될 수 있으며, 저 농도 대비 부피를 줄일 수 있고, 메치오닌 농도가 높아 제형 변형 및 유도체 제조 등의 다양한 용도에 편리하게 활용이 가능하다.

[36]

### 도면의 간단한 설명

[37] 도 1은 L-메치오닌 용해도를 50%까지 향상시키기 위한 본 발명의 방법의 공정에 관한 흐름도이다.

[38]

### 발명의 실시를 위한 형태

[39] 이하, 실시예를 통하여 본 발명의 구성 및 효과를 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것은 아니다.

[40]

[41] **실시예 1: 황화망간을 이용한 12% 메치오닌 용액 제조 후 산처리에 의한 메치오닌 50 % 용액 제조**

[42] 일반적으로 상온에서 메치오닌의 물에 대한 용해도는 50~55 g/L 정도로 알려져 있다. 따라서 L-메치오닌 (99%, Sigma, 미국)을 이용하여 50 mL의 물에 2.5 g을 녹여 L-메치오닌 5% (50 g/L) 용액을 제조하였다. 이 용액을 70~80°C에서 교반하면서 L-메치오닌 23.5 mM (3.5 g)을 투입하고 추가로 투입된 L-메치오닌과 황화망간이 몰비로 1:1이 되게 23.5 mM(3.97g)을 첨가하면서 L-메치오닌 12% (120 g/L) 용액을 제조하였다. L-메치오닌 결정이 완벽히 용해됨을 확인한 후 상온에서 교반을 하면서 위의 12% L-메치오닌 용액에 추가로 과량의 L-메치오닌 약 40 g을 첨가하였다. 이 과정에서 98% 황산(36.8 N)을 L-메치오닌 용액에 0.1 M 되게 첨가하여 발열반응을 수행하였다. 발열반응이 종료 된 후 필터링을 하여 용해되지 못하고 잔존하는 L-메치오닌 결정을 제거한 후 L-메치오닌의 농도를 측정한 결과 50% (500 g/L) 용액이 제조되었다. L-메치오닌 농도 확인은 HPLC로 하였다. 최초 5% 메치오닌 용액 50 ml이 메치오닌 용해도를 높이는 과정에서 첨가된 과량의 메치오닌 첨가에 의해 부피가 증가하여 최종 수득한 50% 메치오닌 용액의 부피는 80 ml이 되게 된다. 따라서 최종적으로 50% 메치오닌 용액 80 ml을 수득하게 된다.

[43] DL-메치오닌(99%, Sigma, 미국)을 사용하여 수행한 동일한 실험에서도 동일한 결과를 확인하였다.

[44]

[45] **실시예 2: 황화아연을 이용한 12% 메치오닌 용액 제조 후 산처리에 의한 메치오닌 50 % 용액 제조**

- [46] 상기 실시예 1에서와 같이 5%의 L-메치오닌 용액 제조 후 50 mL를 취하여 70~80°C에서 교반하면서 L-메치오닌 23.5 mM (3.5 g)을 투입하고 추가로 투입된 L-메치오닌과 황화아연이 몰비로 1:1이 되게 23.5 mM(6.75g)을 첨가하면서 L-메치오닌 12% (120 g/L) 용액을 제조하였다. L-메치오닌 결정이 완벽히 용해됨을 확인한 후 상온에서 교반을 하면서 위의 12% L-메치오닌 용액에 추가로 과량의 L-메치오닌 약 40 g 정도를 첨가하였다. 이 과정에서 98% 황산 (36.8 N)을 L-메치오닌 용액에 0.1 M 되게 첨가하여 발열반응을 수행하였다. 발열반응이 종료 된 후 필터링을 하여 용해되지 못하고 잔존하는 L-메치오닌 결정을 제거한 후 L-메치오닌의 농도를 측정한 결과 50% (500 g/L) 용액이 제조되었다. L-메치오닌 농도 확인은 HPLC로 하였다.
- [47] 최초 5% 메치오닌 용액 50 ml이 메치오닌 용해도를 높이는 과정에서 첨가된 과량의 메치오닌 첨가에 의해 부피가 증가하여 최종 수득한 50% 메치오닌 용액의 부피는 80 ml이 되게 된다. 따라서 최종적으로 50% 메치오닌 용액 80 ml을 수득하게 된다.
- [48] DL-메치오닌을 사용하여 수행한 동일한 실험에서도 동일한 결과를 확인하였다.
- [49]
- [50] 실시예 3: 황화망간, 황화아연, 황화철을 이용하여 12% 메치오닌 용액 제조 후 산처리에 의한 메치오닌 51%, 미네랄 3.75% 용액 제조
- [51] 상기 실시예 1에서와 같이 5%의 L-메치오닌 용액 제조 후 50 mL를 취하여 70~80°C에서 교반하면서 L-메치오닌 23.5 mM (3.5 g)을 투입하고 추가로 황화망간, 황화아연, 황화철을 각각 1 g씩 첨가하여 L-메치오닌 12% (120 g/L) 용액을 제조하였다. 이 과정에서 각각의 미네랄의 투입량은 황화망간 5.92 mM, 황화아연 3.48 mM, 황화철 2.5 mM이 된다. L-메치오닌 결정이 완벽히 용해됨을 확인한 후 상온에서 교반을 하면서 위의 12% L-메치오닌 용액에 추가로 과량의 L-메치오닌 약 40 g 정도를 첨가하였다. 이 과정에서 98% 황산(36.8 N)을 L-메치오닌 용액에 0.1 M 되게 첨가하여 발열반응을 수행하였다. 발열반응이 종료 된 후 필터링을 하여 용해되지 못하고 잔존하는 L-메치오닌 결정을 제거한 후 L-메치오닌의 농도를 측정한 결과 50% (500 g/L), 미네랄 3.75%의 용액이 제조되었다. L-메치오닌 농도 확인은 HPLC로 하였다.
- [52] 최초 5% 메치오닌 용액 50 ml이 메치오닌 용해도를 높이는 과정에서 첨가된 과량의 메치오닌 첨가에 의해 부피가 증가하여 최종 수득한 50% 메치오닌 용액의 부피는 80 ml이 되게 된다. 따라서 최종적으로 50% 메치오닌 용액 80 ml을 수득하게 된다.
- [53] DL-메치오닌을 사용하여 수행한 동일한 실험에서도 동일한 결과를 확인하였다.
- [54]
- [55] 실시예 4: 황화망간, 황화아연, 황화철을 이용하여 12% 메치오닌 용액 제조 후

산처리에 의한 메치오닌 50%, 미네랄 1.88% 용액 제조

- [56] 상기 실시예 2에서와 같이 5%의 L-메치오닌 용액 제조 후 50 mL를 취하여 70~80°C에서 교반하면서 L-메치오닌 23.5 mM (3.5 g)을 투입하고 추가로 황화망간, 황화아연, 황화철을 각각 0.5 g씩 첨가하여 L-메치오닌 12% (120 g/L) 용액을 제조하였다. 이 과정에서 각각의 미네랄의 투입량은 황화망간 2.96 mM, 황화아연 1.74 mM, 황화철 1.25 mM이 된다. L-메치오닌 결정이 완벽히 용해됨을 확인한 후 상온에서 교반을 하면서 위의 12% L-메치오닌 용액에 추가로 과량의 L-메치오닌 약 40 g 정도를 첨가하였다. 이 과정에서 98% 황산 (36.8 N)을 L-메치오닌 용액에 0.1 M 되게 첨가하여 발열반응을 수행하였다. 발열반응이 종료 된 후 필터링을 하여 용해되지 못하고 잔존하는 L-메치오닌 결정을 제거한 후 L-메치오닌 농도를 측정된 결과 50% (500 g/L), 미네랄 1.88%의 용액이 제조되었다. L-메치오닌 농도 확인은 HPLC로 하였다.
- [57] 최초 5% 메치오닌 용액 50 ml이 메치오닌 용해도를 높이는 과정에서 첨가된 과량의 메치오닌 첨가에 의해 부피가 증가하여 최종 수득한 50% 메치오닌 용액의 부피는 80 ml이 되게 된다. 따라서 최종적으로 50% 메치오닌 용액 80 ml을 수득하게 된다.
- [58] DL-메치오닌을 사용하여 수행한 실험에서도 동일한 동일한 결과를 확인하였다.
- [59]
- [60] 실시예 5: 발효 및 전환 반응을 이용하여 생산한 L-메치오닌을 이용한 L-메치오닌 용액 제조
- [61] 본 실시예는 발효를 통해 생산한 O-아세틸호모세린을 효소전환반응하여 제조한 L-메치오닌 분말을 사용하여 고농도의 L-메치오닌을 제조하는 방법이다.
- [62] 1차로, 발효를 통해 생산한 O-아세틸호모세린을 효소전환반응하여 제조한 L-메치오닌 용액을 제조한 후 이 용액을 유동층 과립 제조기를 이용하여 건조하여 과립 L-메치오닌을 제작하였다. 과립 L-메치오닌중의 L-메치오닌 함량은 HPLC를 통하여 정량하였으며 약 60%의 순도를 보임을 확인하였다. 상기 L-메치오닌 용액의 구체적인 제조방법은 종래 특허문헌인 국제특허 제WO2008/013432호에 명기되어 있다.
- [63] L-메치오닌 과립을 정량하여 L-메치오닌의 농도가 5%가 되도록 L-메치오닌 용액을 제조한 후 이 용액을 50 ml을 취하여 70~80°C에서 교반하면서 L-메치오닌 과립 5.83 g을 투입하고 추가로 황화철 5 g(13 mM)을 첨가하면서 L-메치오닌 12% (120 g/L) 용액을 제조하였다. 과립 L-메치오닌 결정이 완벽히 용해됨을 확인한 후 상온에서 교반을 하면서 위의 12% L-메치오닌 용액에 추가로 과량의 L-메치오닌 약 67 g을 첨가하였다. 이 과정에서 98% 황산 (36.8 N)을 L-메치오닌 용액에 0.1 M 되게 첨가하여 발열반응을 수행하였다. 발열반응이 종료 된 후 필터링을 하여 용해되지 못하고 잔존하는 과립 L-메치오닌 결정을 제거한 후 L-메치오닌을 측정된 결과 35% (350 g/L) 용액이 80ml제조되었다. L-메치오닌

농도 확인은 HPLC로 하였다. 이 용액의 농도가 상기 실시예의 99% 순도의 L-메치오닌 또는 DL-메치오닌에 비하여 낮은 것은 L-메치오닌 과립 중에 40%로 존재하는 불순물이 함께 용액에 용해됨으로서 L-메치오닌의 용해를 저해하였기 때문으로 추정된다.

- [64] 이를 확인하기 위하여 발효 및 효소전환법으로 생산한 상기 L-메치오닌 용액으로부터 순도 99% 이상의 L-메치오닌을 제작하였다. 상기 L-메치오닌 용액은 황산을 이용하여 pH1.0으로 적정한 후 양이온 교환 수지에 흡착하고, 암모니아수를 이용하여 용리하였다. 용리액은 다시 황산을 이용하여 pH를 7.0으로 적정한 후 열을 가하며 2배 농축하였다. 농축액에 과량의 메탄올을 투입하여 결정화를 유도하고 형성된 결정을 회수하여 건조하였다. 건조 결정은 HPLC를 이용하여 함량을 계산하였다. 그 결과 결정의 순도는 99% 이상으로 확인되었다. 이와 같은 방법으로 회수한 L-메치오닌 결정 분말을 이용하여 상기 실시예 1 부터 4 번의 실험을 동일하게 수행한 결과 상기 실시예와 동일하게 50% 이상의 메치오닌 용액을 제조할 수 있음을 확인하였다.

[65]

[66] 실시예 6: 실시예 1 내지 5에서 사용된 미네랄 양의 비교

[67] 황화망간의 분자량은 169.02 g/mole, 황화아연의 분자량은 287.53 g/mole이며, 황화철의 분자량은 399.88 g/mole으로, 실시예 1 내지 5에서 사용된 상기 미네랄의 총량을 비교하였다.

[68] 표 1

	최종용액 부피 [mL]	메치오닌			황화망간		황화아연		황화철		최종투입 미네랄 g %	황산농도 [mole/L]
		g	mole	g%	[mole]	[g]	[mole]	[g]	[mole]	[g]		
실시예1	80	40	0.268	500	0.0235	3.97					4.96	0.1
실시예2	80	40	0.268	500			0.023	6.75			8.43	0.1
실시예3	80	40	0.268	500	0.0059	1.00	0.0035	1.00	0.0025	1.00	3.75	0.1
실시예4	80	40	0.268	500	0.0030	0.50	0.0017	0.50	0.0013	0.50	1.88	0.1
실시예5*	80	28	0.188	350					0.0125	5.00	6.25	0.1

[69]

[70] \* 발효 및 효소 전환으로 생산한 메치오닌 분말 사용

[71] 그 결과, 표 1에 나타난 바와 같이, 용해도가 35 내지 50%인 메치오닌 용액 1L를 제조하기 위해 최종 투입된 미네랄의 양은 1 내지 10% 이내로 매우 적은 양을 필요로 하였다. 또한, 미네랄을 한 종류를 이용한 경우보다, 2개 이상의 미네랄을 혼합하여 사용한 경우에 사용량이 더욱 현저하게 줄어든 것을 확인하였다.

[72] 이로부터 미국등록특허 제5430164호에서 8 내지 50%의 메치오닌 용액을 제조하기 위해 사용한 40 내지 50%의 미네랄 사용에 비해, 현저하게 줄인 것을 확인할 수 있었다. 이에, 본 발명의 방법이 미네랄 사용량을 현저하게 줄이면서,

메치오닌의 용해도가 증가한 고농도 메치오닌 용액의 제조에 유용하게 사용될 수 있음을 확인하였다.

[73]

### 산업상 이용가능성

[74] 이상 상기 실시예를 통해 설명한 바와 같이, 본 발명은 메치오닌을 포함하는 용액에 미네랄을 첨가하여 메치오닌의 용해도를 향상시켜준 후 다시 산처리를 수행함으로써 일반적으로 알려져 있는 물에 대한 메치오닌의 용해도를 10배 정도 이상으로 극대화시킬 수 있는 방법을 제공할 수 있으므로 사료, 식품 첨가제 및 의약품산업상 매우 유용한 발명인 것이다.

## 청구범위

- [청구항 1] 메치오닌을 포함하는 용액에 하나 이상의 2가 금속 이온을 포함하는 미네랄을 첨가하여 반응시키는 제1단계; 및 상기 제1단계에 의해 수득된 반응용액에 산을 처리하는 제2단계를 포함하는 메치오닌의 용해도를 증가시키는 방법.
- [청구항 2] 제 1항에 있어서, 상기 2가 금속 이온은  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  및  $\text{Zn}^{2+}$ 으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인, 방법.
- [청구항 3] 제 1항에 있어서, 상기 2가 금속이온을 포함하는 미네랄은 황화철, 황화망간 및 황화아연으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인, 방법.
- [청구항 4] 제 1항에 있어서, 상기 산은 황산인, 방법.
- [청구항 5] 제 1항에 있어서, 상기 메치오닌은 DL-메치오닌 또는 L-메치오닌인, 방법.
- [청구항 6] 제 1항에 있어서, 상기 메치오닌을 포함하는 용액은 발효 또는 효소전환법으로 생산한 L-메치오닌을 포함하는 용액인, 방법.
- [청구항 7] 제 1항에 있어서, 상기 미네랄의 사용량은 총 메치오닌 용액 부피의 1 내지 10%인, 방법.
- [청구항 8] 제 1항에 있어서, 상기 산처리하는 메치오닌을 포함하는 용액에 산을 0.01 내지 0.5 M 의 농도로 첨가하여 수행하는, 방법.
- [청구항 9] 제 1 항의 방법으로 메치오닌의 용해도가 증가된 고농도 메치오닌 용액.

[Fig. 1]

