

Herstellung und Verwendung von Aminosäuren

Von Yoshiharu Izumi, Ichiro Chibata und Tamio Itoh^[*]

Seit 1909 Mononatriumglutamat als Speisewürze auf den Markt kam, hat die Aminosäure-Industrie sich ständig ausgeweitet. Die Produktion hat heute einen Wert von beinahe 1 Milliarde Dollar. Die Aminosäuren werden durch Extraktion aus Proteinhydrolysaten, durch Fermentation mit Hilfe von Mikroorganismen, durch enzymatische Verfahren und durch chemische Synthese hergestellt. Das zuletzt genannte Verfahren erfordert im allgemeinen zwei zusätzliche Schritte, nämlich die Enantiomerentrennung und die Racemisierung des D-Isomers. Zu den wichtigsten Anwendungsgebieten der Aminosäuren zählt die Aufwertung pflanzlicher Nahrungs- und Futtermittel durch Zusatz der fehlenden essentiellen Aminosäure(n). Neben der Verwendung in der Nahrungsmittelindustrie gewinnt die medizinische Anwendung der Aminosäuren (Nährösungen und Therapeutika) zunehmend an Bedeutung.

1. Einleitung

Vor mehr als hundert Jahren arbeitete *Ritthausen* in Königsberg an der Isolierung von Aminosäuren aus Kleberhydrolysaten. 1866 schickte er eine Probe kristalliner Glutaminsäure an den Mineralogen *Werther*. Im Begleitschreiben heißt es: „Dieselbe schmeckt deutlich sauer, etwas adstringirend, erinnert aber im Nachgeschmack entfernt an concentrirten Fleisch-

Tabelle 1. Übersicht über die Aminosäure-Produktion. Die Angaben gelten für das Jahr 1977.

Aminosäure	Produktionsmethode [a]	Menge [t/Jahr]	Preisgruppe [b]
L-Alanin	E	50-100	IV
L-Arginin (- HCl)	F, Ex	200-300	III
L-Asparagin	S	10-50	II
L-Asparaginsäure	E	500-1000	II
L-Cystein	S	50-100	III
L-Cystin	Ex	10-50	III
L-(2,4-Dihydroxy-phenyl)alanin	S	100-200	II
L-Glutamin	F	200-300	III
L-Glutaminsäure(Na)	F	250000	I
Glycin	S	3000	I
L-Histidin(- HCl)	F, Ex	50-100	V
L-Hydroxyprolin	Ex	10-50	V
L-Isoleucin	F	10-50	V
L-Leucin	Ex	50-100	III
L-Lysin (- HCl)	F	25000	II
L-Methionin	S	50-100	III
DL-Methionin	S	100000	II
L-Phenylalanin	S	50-100	IV
L-Prolin	F	50-100	V
L-Serin	E, S	10-50	IV
L-Threonin	F, S	50-100	IV
L-Tryptophan	S	50-100	V
L-Tyrosin	Ex	10-50	III
L-Valin	S, F	50-100	III

[a] Produktionsmethode: E: enzymatisch; Ex: extraktiv; F: fermentativ; S: synthetisch.

[b] Preisgruppe I: < 4 \$/kg; II: 4-20 \$/kg; III: 20-40 \$/kg; IV: 40-80 \$/kg; V: > 80 \$/kg.

[*] Prof. Dr. Y. Izumi
Institute for Protein Research, Osaka University
Suita-shi, Osaka 565 (Japan)
Dr. I. Chibata
Research Laboratory of Applied Biochemistry, Tanabe Seiyaku Co., Ltd.
Yodogawa-ku, Osaka 532 (Japan)
T. Itoh
Euro-American Department, Ajinomoto Co., Inc.
Chuo-ku, Tokyo 104 (Japan)

extract“^[1]. Die Verwendung von Glutaminsäure als Würzstoff wurde damals in Deutschland nicht weiter verfolgt. 1908 entdeckte der japanische Naturwissenschaftler *Ikeda*, daß L-Glutaminsäure der wesentliche Inhaltsstoff von Seetangextrakten ist, einem traditionellen japanischen Suppenbestandteil. Schon ein Jahr danach kam Mononatrium-L-glutamat als Speisewürze auf den Markt. Seit dieser Zeit hat sich die Aminosäure-Industrie enorm entwickelt, wobei Japan immer an der Spitze gestanden hat.

Jetzt werden sämtliche in Proteinen vorkommende Aminosäuren industriell produziert. Die jährliche Gesamterzeugung entspricht einem Wert von fast 1 Milliarde Dollar und nimmt immer noch zu. In Tabelle 1 sind die Produktionsmethoden, die produzierte Menge und der ungefähre Preis jeder dieser Aminosäuren aufgeführt.

Die lebensnotwendigen Proteine bestehen aus etwa zwanzig Arten von Aminosäuren. Diese amphoteren Verbindungen enthalten mindestens eine Amino- und eine Carboxylgruppe. Aufgrund ihrer charakteristischen Eigenschaften finden sie breite Anwendung als Zusatz zu Nahrungs- und Futtermitteln, Pharmazie, Kosmetika, synthetischen Polymeren, Detergentien usw.

1974 haben wir ein Buch über die chemische Synthese und die Verwendung von Aminosäuren veröffentlicht^[2]. Über die mikrobielle Produktion von Aminosäuren ist ebenfalls ein umfassendes Werk erschienen^[3]. Im vorliegenden Aufsatz sollen vor allem die neuesten Fortschritte bei der industriellen Produktion und der Verwendung von Aminosäuren diskutiert werden.

2. Produktion von Aminosäuren

Für die Geschichte der Aminosäureproduktion ist die Herstellung von Mononatriumglutamat (MNG) ein typisches Beispiel. Bei der ersten kommerziellen MNG-Produktion (1909) wurde L-Glutaminsäure als Hydrochlorid aus dem Salzsäurehydrolysat von Weizenkleber abgetrennt. 50 Jahre lang hat die Isolierung aus Proteinhydrolysaten ihre Bedeutung für die Herstellung von MNG beibehalten. 1955 wurde in Japan die mikrobielle Produktion von L-Glutaminsäure aus einfachen Ausgangsstoffen wie Glucose und Ammoniak entwickelt. Seitdem ist diese Fermentationsmethode zur Produktion einer Vielzahl von Aminosäuren verwendet worden. Unterdessen hat man auch Methoden zur chemischen Synthese und Stereoisomerentrennung ausgearbeitet; 1960 konnte die industrielle

Produktion synthetischer Glutaminsäure aufgenommen werden. Inzwischen werden auch andere Aminosäuren wie DL-Methionin, Glycin und L-Tryptophan auf diesem Wege industriell erzeugt.

Zur Aminosäureproduktion eignen sich die Extraktion aus Proteinhydrolysaten, die chemische Synthese und die Fermentation mit Hilfe von Mikroorganismen. Enzymatische Verfahren, z. B. die Produktion von L-Asparaginsäure aus Fumarsäure mit Aspartase und die Herstellung von L-Alanin aus L-Asparaginsäure mit Aspartat- β -Decarboxylase, werden ebenfalls technisch angewendet. Weiterhin sind kontinuierliche industrielle Verfahren für die enzymatische Stereoisomeren trennung und die enzymatische Synthese entwickelt worden, bei denen immobilisierte Enzyme und immobilisierte Mikrobenzellen verwendet werden.

Fast alle Techniken der industriellen Produktion von Aminosäuren wurden in Japan entwickelt und dort erstmals in der Industrie eingesetzt. Durch die genannten Produktions-techniken ist es möglich geworden, eine Vielfalt von reinen, optisch aktiven Aminosäuren preiswert herzustellen. Dies wiederum führt zu einer ständigen Erweiterung ihres Anwendungsbereiches. Inzwischen ist ein eigenständiger industrieller Bereich entstanden, den man als „Aminosäure-Industrie“ bezeichnen kann.

2.1. Extraktionsmethode

Die Abtrennung einer bestimmten Aminosäure aus einem Proteinhydrolysat ist dann möglich, wenn sich diese Aminosäure in ihren Eigenschaften stark von den anderen, im Hydrolysat enthaltenen Aminosäuren unterscheidet. So kann z. B. eine Cystin- und Tyrosin-reiche Fraktion leicht durch Abtrennung der gut wasserlöslichen Aminosäuren aus dem Proteinhydrolysat gewonnen werden, da Cystin und Tyrosin sich nur wenig in Wasser lösen. Auch heute noch werden Cystin und Tyrosin nach dieser einfachen Trennungsmethode kommerziell hergestellt. Hydroxyprolin wird ebenfalls durch Extraktion (aus Gelatinehydrolysaten) produziert. Die bisherige, nur auf Trennungstechniken basierende Methode zur Gewinnung von Arginin und Histidin wird jetzt auf mikrobielle Verfahren umgestellt.

2.2. Fermentationsmethode

Die fermentative Produktion von Aminosäuren, z. B. der Glutaminsäure, begann damit, daß systematisch nach Wildtyp-Mikroorganismen geforscht wurde, bei denen sich bestimmte Aminosäuren durch Verwendung günstiger Nährmedien und Kulturbedingungen anreichern ließen. Diese Methode war allerdings auf einige Aminosäuren beschränkt und lieferte diese auch nur in begrenzten Konzentrationen. Durch Verwendung von Mutanten ist die fermentative Produktion der meisten Aminosäuren möglich geworden.

2.2.1. Verwendung von Wildtyp-Mikroorganismen

Als typisches Beispiel sei hier die mikrobielle Produktion von L-Glutaminsäure beschrieben.

In Mikroorganismen entsteht Glutaminsäure durch Kondensation von Ammoniak mit α -Oxoglutaräure, die ihrerseits aus Glucose über Brenztraubensäure gebildet wird (Abb. 1). Im allgemeinen stellen die Mikroorganismen nur so viel Glutaminsäure her, wie gerade zur Aufrechterhaltung von Leben und Wachstum notwendig ist. Einige Mikroorganismen, z. B.

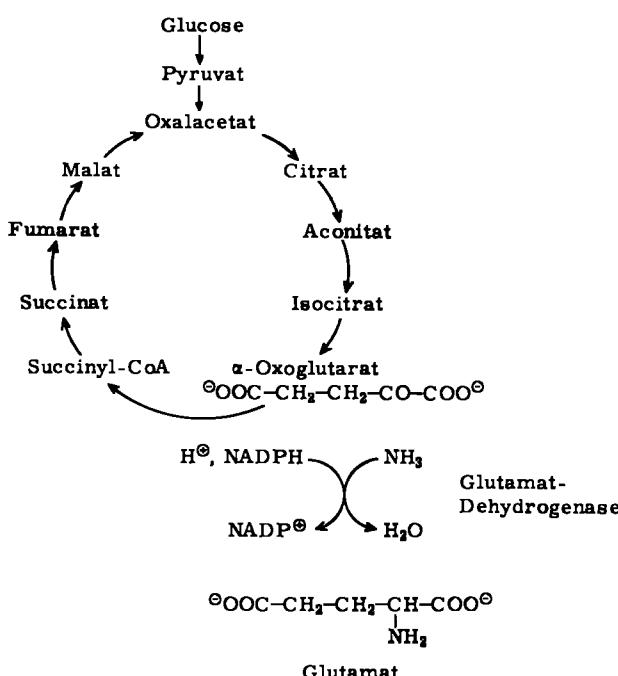


Abb. 1. Biosynthese von Glutamat.

Corynebacterium glutamicum und *Brevibacterium flavum*, besitzen ein besonders aktives Enzymsystem zur Glutaminsäureerzeugung und schleusen die gebildete Aminosäure aus der Zelle aus. Seit 1955 die Isolierung von Mikroorganismen mit hoher Erzeugungsgeschwindigkeit für Glutaminsäure gelang, ist die Fermentationstechnik wesentlich verbessert worden. Heute kann man aus einer Tonne Glucose etwa 500 kg L-Glutaminsäure gewinnen. Als Kohlenstoffquelle wird in den Fermentationsmedien anstelle von Glucose die billigere Rüben- oder Rohrzuckermelasse verwendet. Ferner können auch Essigsäure, Ethanol und unverzweigte Paraffine für diesen Zweck nutzbar gemacht werden.

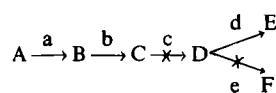
Die Fermentation wird folgendermaßen ausgeführt: In einen sterilisierten Tank (Fermenter) werden eine wässrige Lösung des als Kohlenstoffquelle dienenden Stoffes sowie Vitamine und Mineralstoffe gegeben, die für das Wachstum erforderlich sind. Nach dem Animpfen mit Glutaminsäure-bildenden Mikroorganismen führt man dem Kulturmedium unter heftigem Rühren Luft und Ammoniak zu. Während dieser Fermentierung wird die Temperatur bei 35°C gehalten. Nach etwa 40stündiger Kultivierung enthält die Kulturbrühe große Mengen an Glutaminsäure.

Falls die direkte fermentative Produktion einer Aminosäure aus Zucker schwierig ist, setzt man entsprechende Vorstufen ein. So werden z. B. Isoleucin^[14] und Serin^[15] durch Fermentation in Kulturmedien hergestellt, die Threonin bzw. Glycin enthalten.

2.2.2. Verwendung von Mutanten

Wie bereits in Abschnitt 2.2.1 festgestellt, kann nur eine begrenzte Zahl von Aminosäuren durch Fermentation mit Wildtyp-Mikroorganismen gewonnen werden, da die Bildung von Aminosäuren im allgemeinen bei Mikroorganismen durch Rückkopplungsmechanismen („feedback“) geregelt wird. Einen Ausweg bietet die Verwendung mutierter Mikroorganismen, die spezielle Aminosäuren im Überschuß erzeugen. Daraus haben sich mehrere Methoden ergeben, die im folgenden näher beschrieben werden.

Verwendung auxotropher Mutanten: Auxotrophe Mutanten, denen ein (oder mehrere) Enzym für die Biosynthese einer Aminosäure fehlt, können für die mikrobielle Produktion von Aminosäuren benutzt werden.



Dieser Methode liegt folgendes Prinzip zugrunde: 1. Eine Mutante, die die Aminosäure D zum Wachstum benötigt (Aminosäure-D-Mangelmutante), akkumuliert wegen des fehlenden Enzyms c die Aminosäure C; 2. eine Aminosäure-F-Mangelmutante, der also das Enzym e fehlt, kann die auf einem anderen Verzweigungsweg gebildete Aminosäure E anreichern.

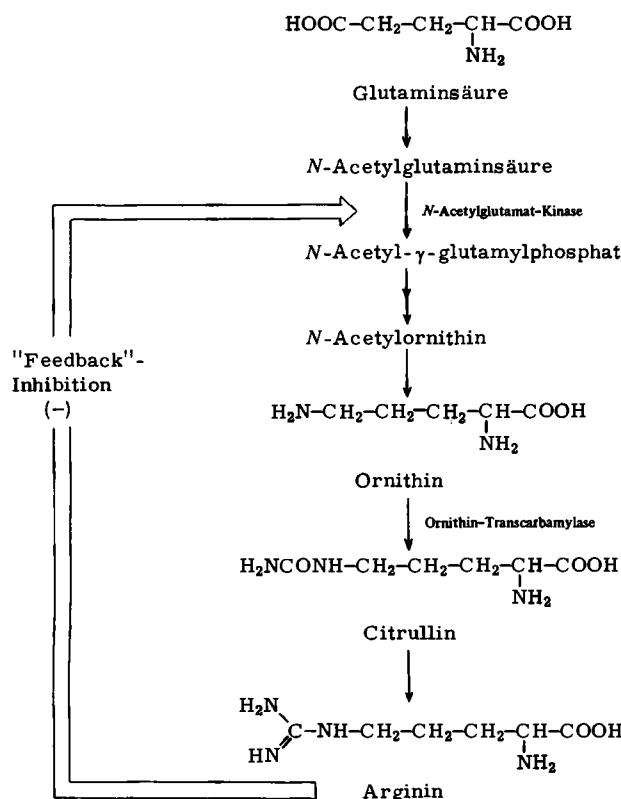


Abb. 2. Akkumulation von Ornithin durch eine Citrullin-Mangelmutante von *Corynebacterium glutamicum*.

Als Beispiel für den ersten Fall zeigt Abbildung 2 die Anreicherung von Ornithin durch eine Citrullin-Mangelmutante des *Corynebacterium glutamicum*, dem also die Ornithin-Transcarbamylase fehlt^[6]. Der zweite Fall ist z. B. bei der Akkumulation von Lysin durch Homoserin-Mangelmutanten

Tabelle 2. Akkumulation von Aminosäuren durch auxotrophe Mutanten.

Produkt	vom Mikroorganismus benötigte Aminosäure	Mikroorganismus	Lit.
Ornithin	Citrullin	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	[6]
Lysin	Homoserin (Threonin + Methionin)	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	[7]
Citrullin	Arginin	<i>Bacillus subtilis</i>	[8]
Valin	Leucin	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	[9]
Threonin	Methionin + Isoleucin + Diamino-pimelinsäure	<i>Escherichia coli</i>	[10]

des *Corynebacterium glutamicum* und von *Escherichia coli*^[7] verwirklicht. Bei diesen Mutanten wird wegen Fehlens der Homoserin-Dehydrogenase der Syntheseweg vom Asparaginsäure-semialdehyd zum Homoserin blockiert. Das führt zur Anreicherung von Lysin, dem Endprodukt eines abzweigenden Syntheseweges. Weitere typische Beispiele für die Verwendung auxotropher Mutanten sind in Tabelle 2 aufgeführt.

Verwendung regulatorischer Mutanten: Das Wachstum von Mikroorganismen kann durch Aminosäure-Analoga gehemmt werden. Einige Mikroorganismen verlieren jedoch durch Mutation ihre Empfindlichkeit gegenüber diesen Stoffen. In diesen Mutanten ist die Rückkopplung aufgehoben, was zu einer übermäßigen Anreicherung der betreffenden Aminosäure

Tabelle 3. Akkumulation von Aminosäuren durch regulatorische Mutanten.

Produkt	Aminosäure-Analogon	Mikroorganismus	Lit.
Arginin	2-Thiazolalanin	<i>Brevibacterium flavum</i>	[11]
Methionin	Ethionin + Seleno-methionin + Methionin-hydroxamat	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	[12]
Isoleucin	Isoleucin-hydroxamat	<i>Serratia marcescens</i>	[13]
Isoleucin	α -Amino- β -hydroxy-valeriansäure + O-Methylthreonin	<i>Brevibacterium flavum</i>	[14]
Tryptophan	5-Fluor-tryptophan + Tryptophan-hydroxamat	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	[15]
Lysin	S-(2-Aminoethyl)-L-cystein	<i>Brevibacterium flavum</i>	[16]

führt. Solche Mutanten werden auch als regulatorische Mutanten bezeichnet; in Tabelle 3 sind einige Beispiele für auf diesem Weg erzeugte Aminosäuren zusammengestellt. Neben den einfachen Mutanten werden jetzt auch immer mehr polyauxotrophe und auxotroph-regulatorische Mutanten verwendet^[17].

2.3. Enzymatische Methode

Bei der Fermentationsmethode werden die Aminosäuren unter Verwendung des gesamten Enzymapparats der Mikroorganismen produziert. Einige Aminosäuren können aber auch aus günstigen Vorstufen durch mikrobielle Enzyme hergestellt werden, indem man nur einen Teil des Enzymapparates benutzt.

So kann z. B. die folgende Reaktion, bei der L-Asparaginsäure entsteht, unter Verwendung einer Zellsuspension von *Escherichia coli* durchgeführt werden (Abb. 3). Diese Reaktion wird in Mikrobenzellen durch Aspartase katalysiert^[18]. Aus der so erhaltenen L-Asparaginsäure wird L-Alanin industriell durch Einwirkung von Aspartat- β -Decarboxylase unter Verwendung von *Pseudomonas dacunhae*-Zellen hergestellt^[19].

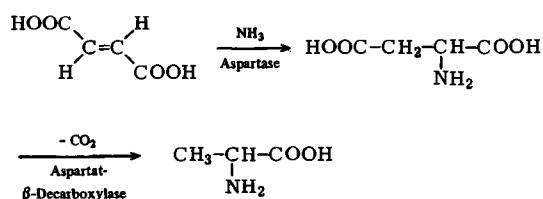


Abb. 3. Enzymatische Bildung von Alanin aus Fumarsäure über Asparaginsäure.

Um solche Enzymreaktionen kontinuierlich durchführen zu können, hat man die Immobilisierung von Mikrobenzellen

mit hoher Enzymaktivität durch Einbau in polymere Träger entwickelt^[20]. So wird in Japan L-Asparaginsäure kontinuierlich unter Verwendung von Säulen erzeugt, die mit immobilisierten Mikrobenzellen gepackt sind. Hier ist überhaupt erstmals ein immobilisiertes Mikrobenzellsystem zur industriellen Anwendung gekommen.

Bei der enzymatischen Synthese von Tryptophan aus Indol und Pyruvat mit Tryptophanase fällt man das gebildete Tryptophan durch Zugabe von Inosin zum Reaktionsgemisch als unlöslichen Tryptophan-Inosin-Komplex aus^[21]. Auf diese Weise wird Tryptophan ständig nachgeliefert. Dies ist ein interessantes Beispiel für die Nutzung reversibler Enzymreaktionen.

Kürzlich ist ein neues interessantes enzymatisches Verfahren zur Erzeugung von L-Lysin entwickelt worden^[22]. Aus Cyclohexan, einem Nebenprodukt der Caprolactam-Synthese, hat man DL- α -Aminocaprolactam hergestellt, das in einem einstufigen Prozeß durch gleichzeitige Einwirkung von mikrobieller L-Aminocaprolactam-Hydrolase und Aminocaprolactam-Racemase vollständig in L-Lysin umgewandelt wird (Abb. 4). Die industrielle Anwendung dieses Prozesses macht Fortschritte; die Konkurrenz mit der kürzlich entwickelten mikrobiellen Produktion von L-Lysin dürfte mit großem Interesse verfolgt werden.

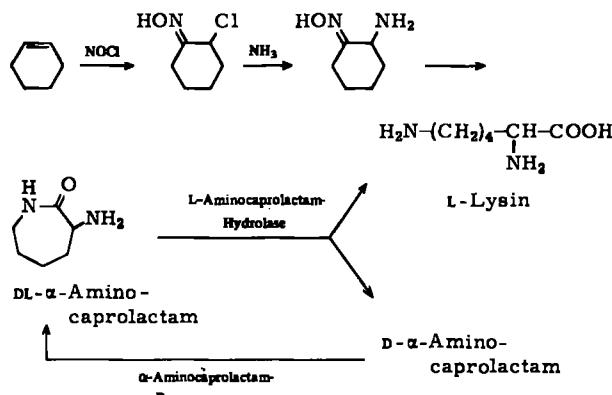


Abb. 4. Umwandlung von DL- α -Aminocaprolactam in L-Lysin.

Im allgemeinen kann bei der enzymatischen Methode bei höheren Konzentrationen gearbeitet werden, und zudem ist die Isolierung der Produkte einfacher als bei der Fermentationsmethode. Deshalb ist die enzymatische Methode vorteilhaft, sofern billige Vorstufen erhältlich sind und die Reaktion exergonisch ist. Dieses Grenzgebiet zwischen synthetischer Chemie und Biochemie bietet gute Aussichten für die zukünftige Aminosäure-Produktion.

2.4. Synthetische Methode

Die synthetische Methode vermag eine größere Vielfalt an Rohmaterialien und Verfahren zu nutzen als die Fermentationsmethode. Außerdem erleichtert die Entwicklung der chemischen Industrie und Technologie die Versorgung mit vielerlei billigen Materialien und erhöht so die Wettbewerbsfähigkeit der synthetischen Methode. So hat z. B. die Entwicklung der petrochemischen Industrie die großtechnische und preiswerte Produktion von Acrolein aus Propylen ermöglicht. Das wiederum macht die Synthese von Methionin aus Acrolein wirtschaftlich. Für die synthetische Methode wird allerdings eine Vielzahl von Ausgangsstoffen benötigt, die wiederum nur von einer hochentwickelten chemischen Industrie produziert werden können. Die Methode unterscheidet sich damit wesentlich von der Fermentationsmethode, die diese starke technologische Abhängigkeit nicht aufweist.

Wie in Abschnitt 3 gezeigt werden wird, benötigt man meistens die L-Aminosäuren. Zur Produktion von L-Aminosäuren ist eine Kombination von Verfahren notwendig, die aus der eigentlichen chemischen Synthese, der Enantiomerentrennung und der Racemisierung der D-Aminosäuren besteht. Die beiden zusätzlichen Verfahrensschritte sind wirtschaftlich gesehen ein schwerwiegender Nachteil der synthetischen Methode. Dieser Nachteil spielt nur im Falle des Glycins und des Methionins keine Rolle, da Glycin kein asymmetrisches Kohlenstoffatom enthält und der Nährwert von D- und L-Methionin fast gleich ist.

Für die industrielle Aminosäureproduktion sind synthetische Verfahren mit möglichst hoher Ausbeute erforderlich.

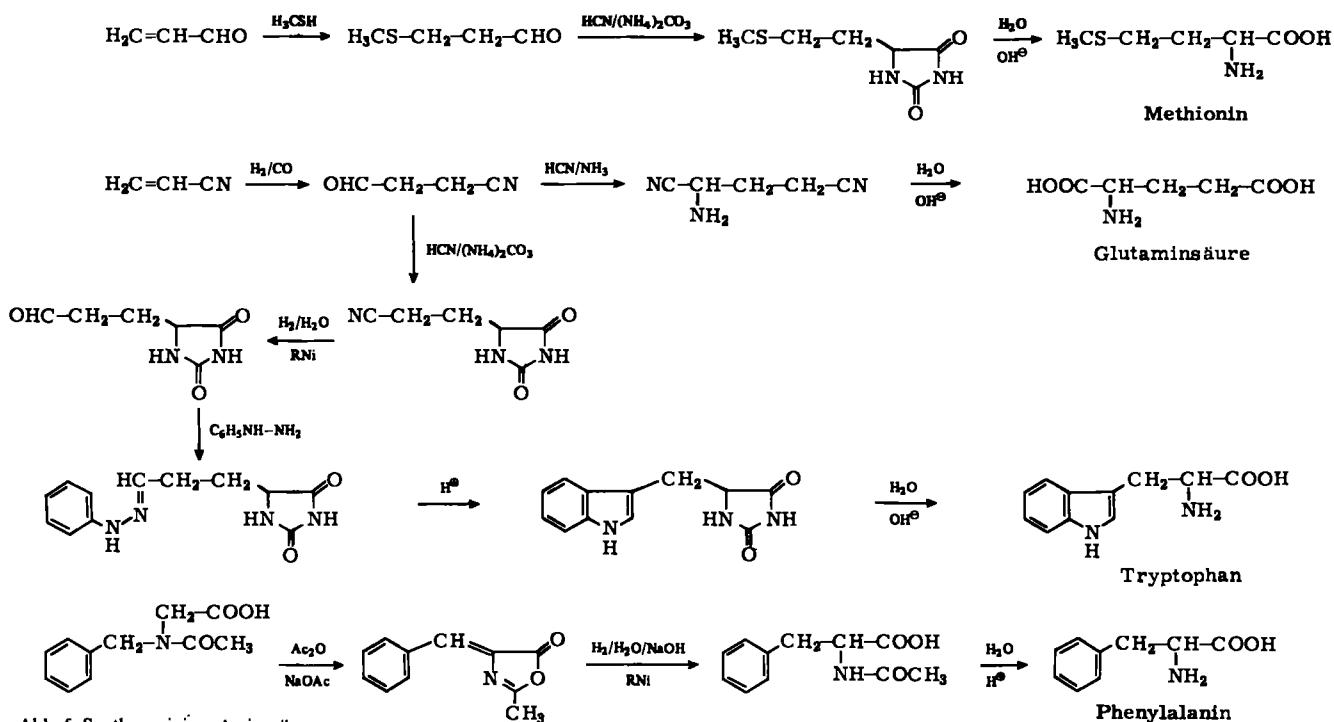


Abb. 5. Synthese einiger Aminosäuren.

Die Methoden nach *Strecker* und nach *Snyder* erfüllen diese Anforderungen; beide spielen bei der industriellen Produktion durch chemische Synthese eine wesentliche Rolle.

Für Phenylalanin und Tryptophan konnten bisher keine praktikablen fermentativen Verfahren entwickelt werden. Deshalb werden diese Aminosäuren synthetisch hergestellt (Abb. 5). Diese Methode wird auch über die nächste Zeit hin-aus ihren Wert für die Produktion behalten. Trotz der Nach-teile der synthetischen Methode wurde Glutaminsäure in Japan im technischen Maßstab durch Synthese erzeugt (Abb. 5). Obwohl das Verfahren angeblich gegenüber dem Fermen-tationsverfahren wettbewerbsfähig war, ist es jetzt aufgegeben worden. – Das Verfahren zur Synthese von Methionin ist ebenfalls in Abbildung 5 aufgenommen.

2.5. Stereoisomerentrennung

Um aus den synthetisch hergestellten DL-Aminosäuren optisch aktive Aminosäuren zu erhalten, müssen die Stereoisomere getrennt werden. Zwei Verfahren, nämlich das enzymatische Verfahren und das Kristallisationsverfahren, werden jetzt in der Industrie angewendet. Das Kristallisationsverfahren basiert auf dem Prinzip, daß das gewünschte optisch aktive Isomer bevorzugt aus einer übersättigten Lösung der DL-Aminosäure auskristallisiert, wenn die Lösung mit wenigen Kristallen dieses Isomers angeimpft wird. Das Verfahren ist für die Stereoisomerentrennung von Glutaminsäure und von Threonin verwendet worden. Allerdings lassen sich nur wenige freie Aminosäuren nach dieser Methode trennen. In einigen Fällen gelingt die Stereoisomerentrennung von Aminosäuren nach ihrer Überführung in Salze oder andere Derivate. Beispiele dafür sind die Trennung des Ammoniumsalzes von acyliertem Tryptophan und acyliertem Phenylalanin. Derivate aromatischer Sulfonsäuren lassen sich ebenfalls auf diesem Weg trennen, z. B. DL-Lysin^[23] als Sulfanilsäuresalz, DL-Serin^[24] als *m*-Xylolsulfonat und DL-Lysin^[25] als Anthrachinon- β -sulfonat. Vor kurzem konnte man mit dem Kristallisationsverfahren auch *N*-Acyl-DL-prolin^[26] und DL-3-(3,4-Methylendioxyphenyl)-2-methylalanin-hydrochlorid^[27] in die Stereoisomere zerlegen.

Obwohl mehrere Methoden zur enzymatischen Trennung von DL-Aminosäuren bekannt sind, hat sich als industrielles Verfahren nur die asymmetrische Hydrolyse von Acyl-DL-aminoäuren durch mikrobielle Aminoacylase durchgesetzt. Diese Methode wird für die Herstellung von L-Phenylalanin, L-Tryptophan, L-Valin, L-Methionin und L-(2,4-Dihydroxyphenyl)-alanin (Dopa) benutzt und derzeit durch Anwendung immobilisierter Enzymsysteme weiter verbessert. Dazu wird die Aminoacylase ionisch an einen Träger aus DEAE-Sephadex gebunden. Die Enzymreaktion wird kontinuierlich und automatisch in Säulen durchgeführt, die mit der immobilisierten Aminoacylase gefüllt sind. Diese kontinuierliche Herstellung optisch aktiver Aminosäuren ist seinerzeit in Japan entwickelt und dort 1969 in der Industrie eingeführt worden. Abbildung 6 zeigt das Flußdiagramm dieses Verfahrens. Es ist sparsam im Enzym- und Substratverbrauch und zudem wenig arbeitsaufwendig. Die gesamten Produktionskosten liegen um mehr als 40 % niedriger als bei einem konventionellen, mit löslichen Enzymen arbeitenden diskontinuierlichen Verfahren.

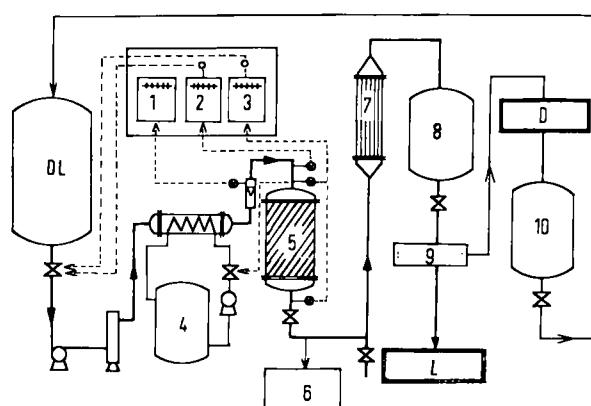
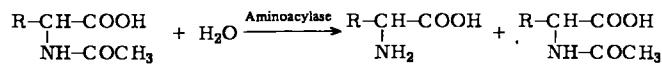


Abb. 6. Flußdiagramm für die kontinuierliche Produktion von kristallinen L-Aminosäuren durch immobilisierte Aminoacylase. DL: Acetyl-DL-aminosäure; L: L-Aminosäure; D: Acetyl-D-aminosäure; 1 bis 3: Durchfluß-, pH- und Temperaturmessung; 4: Heißwassertank; 5: Säule mit immobilisierter Aminoacylase; 6: automatischer Reaktions schreiber; 7: Verdampfer; 8: Kristallisierungs kammer; 9: Abscheider; 10: Tank für die Racemisierung.

2.6. Racemisierung

Die Racemisierung von Aminosäuren ist relativ einfach durchführbar. Industriell racemisiert man Aminosäuren oder ihre Salze durch Erhitzen wäßriger Lösungen bei 150 bis 250°C unter Druck. *N*-Acetylaminosäuren lassen sich bereits bei Raumtemperatur in Essigsäure durch Einwirkung von Acetanhydrid racemisieren. Außerdem werden Aminosäuren auch durch Enzyme (Racemaseren) racemisiert; diese Methode ist allerdings nicht allgemein anwendbar.

2.7. Asymmetrische Synthese

Sehr wertvoll ist die asymmetrische Synthese von L- oder D-Aminosäuren, denn dabei ist keine Stereoisomerentrennung erforderlich. Von den bekannten Verfahren der asymmetrischen Synthese könnte die enantiomeren-unterscheidende (selektive) katalytische Reaktion^[28] industrielle Bedeutung erlangen. 1968 gelang es, L-Dopa durch asymmetrische Synthese mit Wilkinsons Komplexkatalysator zu erhalten, der optisch aktive Phosphanliganden trägt (Abb. 7)^[29]. Diese praktikable

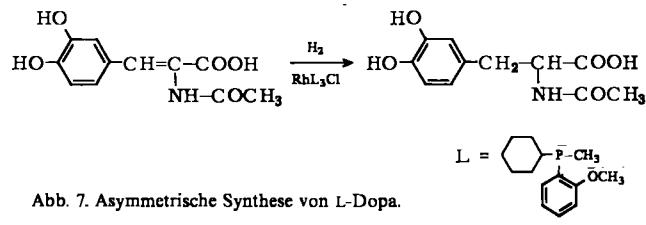


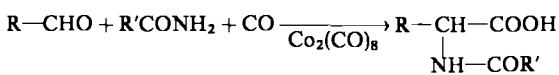
Abb. 7. Asymmetrische Synthese von L-Dopa.

Methode hat vor allem deshalb Beachtung gefunden, weil sich damit eine relativ kostspielige Aminosäure darstellen läßt und weil das Zwischenprodukt recht stabil ist. Unabhängig von allen wirtschaftlichen Erwägungen leidet die asymmetrische Synthese allerdings darunter, daß das Kohlenstoffatom der Vorstufe, das zum α -Kohlenstoffatom der Aminosäure wird, als sp^2 -Hybrid vorliegen muß. Deshalb dürfte die asymmetrische Synthese bis auf einige extreme Sonderfälle keine besondere Bedeutung als industrielle Methode erlangen.

Wie bereits in den Abschnitten 2.2, 2.3 und 2.4 beschrieben, werden fermentative, enzymatische und synthetische Verfahren zur Aminosäureherstellung benutzt. Die fermentative Methode hat vor allem durch Anwendung der neuesten Techniken der Mikrobiogenetik die Produktion vieler Aminosäuren möglich gemacht. Die relativ billigen Ausgangsmaterialien sind ein besonderer Vorteil der fermentativen Methode, die natürliche L-Aminosäuren aus billigen, Kohlenstoff und Stickstoff enthaltenden Substanzen liefert. Die Fermentationsmethode ergibt aber kleinere Ausbeuten als die synthetische Methode. Außerdem ist viel Arbeit und Zeit für die Isolierung oder Reinigung des Produktes notwendig, da die Produktkonzentration im allgemeinen niedrig ist und oft auch Nebenprodukte entstehen.

Andererseits erfordert die synthetische Methode Verfahren zur Stereoisomerentrennung und Racemisierung, da gewöhnlich DL-Aminosäuren anfallen. Dagegen stehen die Vorteile des Arbeits im größeren Maßstab und der leichten Isolierung und Reinigung.

Es wäre sinnlos, die Reaktionen nach *Strecker* oder *Snyder* enantioselektiv auszuführen, da sowohl Cyanhydrate als auch Hydantoine bei der Hydrolyse zu den Aminosäuren leicht racemisieren. Praktikabel werden diese Methoden erst durch eine stereoselektive katalytische Hydrolyse. Ein Beispiel dafür ist die enzymatische Darstellung von L-Lysin aus DL-Aminocaprolactam (vgl. Abb. 4). Falls sich für die folgende Reaktion ein stereoselektiver Katalysator finden ließe, wäre sie preisgünstig und wegen ihres großen Anwendungsbereiches vielversprechend:



Daher erscheinen bei weiter ansteigenden Investitionskosten und Löhnen die synthetischen Verfahren aus wirtschaftlichen Gründen vorteilhafter, und zwar nicht nur für die Herstellung der aromatischen, sondern auch der anderen Aminosäuren.

Die enzymatische Methode steht hinsichtlich ihrer Eigenschaften zwischen der Fermentation und der Synthese. So führt sie zu optisch aktiven Aminosäuren, und die Isolierung ist wegen der hohen Produktkonzentration einfach. Darüber hinaus kann ein enzymatisches Verfahren bei Verwendung immobilisierter Enzyme oder Zellsysteme kontinuierlich und automatisch durchgeführt werden. Ebenfalls vielversprechend erscheint die Verwendung chemisch synthetisierter Vorstufen bei der enzymatischen Methode.

3. Verwendung von Aminosäuren

Die Aminosäuren sind die Bausteine des Proteins, eines der drei unentbehrlichen Nahrungsbestandteile.

Alle in Proteinen vorkommenden Aminosäuren haben L-Konfiguration, und nur in dieser L-Form werden die Aminosäuren im Körper letztlich verwertet. Deshalb werden für die menschliche oder tierische Ernährung gewöhnlich^[*] die L-Aminosäuren benötigt.

[*] Ausnahme: Methionin (siehe Abschnitt 2.4).

3.1. Aufwertung von Nahrungs- und Futtermitteln

Der Nährwert eines Proteins hängt von der Menge und vom Verhältnis der essentiellen Aminosäuren ab. In Tabelle 4 ist der geschätzte tägliche Bedarf aufgeführt. Wir müssen

Tabelle 4. Täglicher Bedarf von Erwachsenen an essentiellen Aminosäuren (geschätzt) [30].

Aminosäure	Menge [mg/kg]
Isoleucin	10
Leucin	14
Lysin	12
Methionin + Cystin	13
Phenylalanin + Tyrosin	14
Threonin	7
Tryptophan	3.5
Valin	10

diese essentiellen Aminosäuren täglich und gleichzeitig aufzunehmen; auch wenn nur eine einzige davon im Unterschuss oder zu einem anderen Zeitpunkt als die übrigen gegeben wird, sinkt die Verwertbarkeit aller aufgenommenen Aminosäuren auf den durch die unzureichend gegebene Aminosäure („limitierende Aminosäure“) bestimmten Wert. In den meisten Getreidearten ist das Aminosäureverhältnis nicht sehr günstig. Der Nährwert von Proteinen kann durch Änderung des Aminosäureverhältnisses wesentlich verbessert werden; dazu mischt man den Nahrungs- oder Futtermitteln kleine Mengen der limitierenden Aminosäure(n) bei. Diese Aufwertung durch Aminosäureanreicherung hat nicht nur ernährungsphysiologische, sondern auch wirtschaftliche Bedeutung.

Zur Zeit wird die Aminosäureanreicherung im großen Maßstab bei Viehfutter angewendet. Besonders Methionin und Lysin sind für die Fleischerzeugung unentbehrlich geworden. Für Mischfutter dient gewöhnlich Fischmehl oder Sojabohnenmehl als Proteinquelle. Die Aminosäurezusammensetzung des Fischmehls ist zwar günstig, doch ändern sich häufig der Preis und die angebotenen Mengen. Sojabohnenmehl wird dagegen in relativ gleichbleibenden Mengen angeboten, und sein Anteil in Mischfuttern nimmt ständig zu. Da Methionin die limitierende Aminosäure im Sojabohnenprotein ist, kann dessen Nährwert ganz wesentlich durch Methioninzusatz verbessert werden. Möglich wäre auch die Methioninsupplementierung von Biomasse (SCP, „single cell protein“), die ebenfalls einen zu geringen Methioningehalt aufweist.

Fast alles derzeit produzierte DL-Methionin wird für diese Aufwertung von Futtermitteln verwendet. Der Methioninbedarf steigt von Jahr zu Jahr. Schätzungsweise erreicht die jährliche Weltproduktion an Methionin-angereichertem Mischfutter 200 Millionen Tonnen.

Mais ist ebenfalls eine wichtige Proteinquelle für Viehfutter, enthält aber wie andere Getreide nur sehr wenig Lysin. Bei Mischfutter mit hohem Maisanteil und geringem Anteil an Sojabohnenmehl ist die Lysinsupplementierung zur Verbesserung des Nährwertes erforderlich; beim derzeitigen Anstieg der Sojabohnenpreise gewinnt sie ständig an Bedeutung. Der jährliche Weltbedarf an Lysin wird auf über 20000 Tonnen geschätzt.

Mit Ausnahme von Mais enthalten die meisten Getreidearten zu wenig Threonin. Beim Mais ist neben Lysin auch Tryptophan eine limitierende Aminosäure. So kann Trypto-

phan in Gegenden, wo hauptsächlich Mais gegessen wird, zur Verbesserung der Ernährung verwendet werden.

Der Anstieg der Weltbevölkerung und schlechte Ernten haben schwere Ernährungsprobleme heraufbeschworen, vor allem im Hinblick auf die Proteinversorgung. Zur Lösung dieser Probleme erscheint eine bessere Ausnutzung der pflanzlichen Nahrung am aussichtsreichsten. Viele Untersuchungen haben gezeigt, daß man durch Lysinbeimischung zu Nahrungsmitteln wie Brot und Reis den Nährwert des Getreideproteins verbessern kann, doch ist die Lysinzugabe zu Getreideprodukten noch nicht im großen Maßstab praktiziert worden. Die Beimischung von Lysin und Methionin zum Mischfutter erlaubt Einsparungen an pflanzlichen Proteinen bei der Produktion tierischen Proteins. Auf jeden Fall konkurrieren Nahrungs- und Futtermittel um die gleichen begrenzten Ressourcen.

Hinsichtlich der Nahrungsmittelversorgung der Welt glauben wir, daß eine Ernährungskrise verhindert werden kann, wenn das für Nahrungs- und Futtermittel verwendete Getreide weltweit durch Zugabe essentieller Aminosäuren aufgewertet wird.

3.2. Verwendung in der Nahrungsmittelindustrie

Der Geschmack der Nahrungsmittel ist ein ebenso wichtiger Faktor wie ihr Nährwert. Berücksichtigt man, daß die Aminosäuren wesentlich zum Geschmack der Nahrungsmittel beitragen, so wird die Bedeutung der Aminosäuren in der Nahrungsmittelindustrie verständlich. Viele Nahrungsstoffe verdanken ihren typischen Geschmack freien Aminosäuren. Speziell L-Glutaminsäure, die überall in tierischen und pflanzlichen Nahrungsmitteln vorkommt, kann den Geschmack und das Aroma von natürlichen Nahrungsstoffen verstärken oder verbessern. Diese Aminosäure fördert zugleich synergistisch die Geschmackswirkung von Nucleotiden wie Natriuminosinat, die für den Geschmack von tierischen Nahrungsmitteln maßgeblich sind^[31]. Deshalb ist Natrium-L-glutamat ein unentbehrlicher Zusatz für Suppenkonzentrate und viele andere Nahrungsmittel dieser Art. Natriumglutamat wird, allein oder kombiniert mit einem Nucleotid, in den asiatischen Ländern, den USA und in Lateinamerika in großen Mengen zum Kochen oder zum Nachwürzen vertrieben.

Neben Glutaminsäure werden in geringerem Umfang auch andere Aminosäuren, z. B. L-Asparaginsäure, L-Alanin und Glycerin, in der Nahrungsmittelindustrie verwendet. L-Alanin und Glycerin, die beide einen erfrischenden, süßlichen Geschmack besitzen, sind reichlich in Garnelen und Muscheln enthalten. Deshalb werden sie als wichtige Geschmackskomponenten der Fischereiprodukte angesehen.

Auch Bitterstoffe tragen zum Geschmack von Nahrungsmitteln bei. Viele L-Aminosäuren und Peptide schmecken bitter. Bei Käse hat sich Cyclo(L-tryptophanyl-L-leucyl) als einer der bitteren Inhaltsstoffe herausgestellt^[32]. Cyclo(L-valyl-L-phenylalanyl) ist für den bitteren Geschmack der Kakaobohnen verantwortlich^[33].

Seit 1968 zufällig der ausgesprochen zuckerähnliche Geschmack von L-Aspartyl-L-phenylalanin-methylester (APM) entdeckt wurde, ist eine Vielzahl von Berichten und Patentschriften über süße Peptide erschienen. Derzeit wird die praktische Anwendung von APM vorbereitet; es ist 150mal süßer als Zucker.

Bei der Nahrungsmittelverarbeitung entstehen durch Brenzreaktionen spezielle Geschmacks- und Aromastoffe. So führt

z. B. die Erhitzung von feinzerteilten Kohlenhydraten mit einer Pentose und schwefelhaltigen Aminosäuren zu zusammenhängenden, porösen Produkten mit fleischähnlichem Geschmack^[34]. Ein schokoladeähnliches Aroma erhält man beim gemeinsamen Erhitzen von verzweigten Aminosäuren und Zuckern^[35]. Die Brenzreaktionsprodukte aus Aminosäuren und Zuckern besitzen überdies ausgesprochen oxidationsverhütende Eigenschaften^[36].

Außerdem finden Aminosäuren in der Nahrungsmittelindustrie noch für viele andere Zwecke Verwendung, z. B. zur Fleisch-^[37] und Bierkonservierung^[38], zur Verhinderung der Denaturierung von Gefrierfleisch^[39] und zur qualitativen Verbesserung von Reiswein^[40].

3.3. Medizinische Verwendung

3.3.1. Nährösungen

Seit kristalline Aminosäuren 1956 in Japan zur parenteralen Infusion eingeführt wurden, treten reine Aminosäuren immer mehr an die Stelle von Proteinhydrolysaten, da Infusionen auf der Basis kristalliner Aminosäuren einen höheren Nährwert und weniger ungünstige Eigenschaften besitzen als Infusionen unter Verwendung von Proteinhydrolysaten. Schätzungsweise beträgt der jährliche Weltbedarf an solchen Infusionspräparaten 10 Millionen Flaschen zu je 500 ml mit einem Aminosäuregehalt von 5 bis 10 %. Die meisten neuen Aminosäure-Infusionen enthalten etwa 15 Aminosäuren, darunter die essentiellen. Die Lösung wird gewöhnlich in eine periphere Vene injiziert.

1968 haben *Dudrick et al.* eine neue Methode mitgeteilt, bei der Aminosäuren in relativ hohen Konzentrationen zusammen mit Glucose, Mineralstoffen und Vitaminen in die zentrale Vene injiziert werden^[41]. Mit dieser Technik wird eine ausreichende parenterale Ernährung möglich. Diese Methode hat die Anwendungsmöglichkeiten von Aminosäure-Infusionen erweitert.

Für Patienten mit Störungen im Verdauungstrakt hat man eine oral zu nehmende „chemisch definierte Diät“ (CDD) entwickelt. In dieser Diät bilden die Aminosäuren die Stickstoffquelle; alle notwendigen Nährstoffe liegen in chemisch definierter Form vor.

3.3.2. Therapeutika

Einige Aminosäuren mit speziellen physiologischen Wirkungen werden für therapeutische Zwecke eingesetzt. L-Arginin ist an der Biosynthese von Harnstoff beteiligt und wird zur Behandlung von Leberstörungen verwendet. Arginingaben sollen auch die durch Argininmangel hervorgerufene männliche Infertilität beheben können^[42].

Es wurde berichtet, daß L-Tryptophan einschläfernd wirkt^[43] und als Antidepressivum verwendet worden ist^[44]. Die orale Gabe von L-5-Hydroxytryptophan verbessert den Muskeltonus von Kindern mit Downs-Syndrom^[45].

Nach *Gerber*^[46] können große orale Dosen von L-Histidin die Symptome bei rheumatoider Arthritis erleichtern. Mit L-Dopa wird die Parkinsonsche Krankheit behandelt.

Aminosäuren dienen auch als Ausgangsmaterialien zur Synthese von Peptiden, die als Medikamente oder Diagnostika verwendet werden, z. B. Glutathion, TRH, Pentagastrinpeptid und LHRH.

3.4. Weitere Verwendungsmöglichkeiten

Man hat mehrere industrielle Anwendungsmöglichkeiten für Aminosäuren gefunden, bei denen man ihre physikochemischen Eigenschaften ausnutzt. Da industrielle Grundstoffe möglichst wenig kosten dürfen, werden für diesen Zweck billige Aminosäuren eingesetzt. Natriumacylglutamat wird als schwach saure Seife verwendet, die ungefähr denselben pH-Wert wie menschliche Haut hat. Mit Poly- γ -glutamat beschichtet man Kunststoff-Folien, damit sie sich wie echtes Leder anfühlen. Darüber hinaus werden Aminosäuren bei Kosmetika als puffernde oder feuchtigkeitshaltende Komponenten verwendet.

4. Schlußbetrachtung

Dank technischer Innovationen sowohl im Herstellungs- als auch im Anwendungsbereich ist die Aminosäure-Industrie groß geworden. Jetzt scheint jedoch das Wachstum in ein Plateau einzumünden. Dies bedeutet, daß das erste Stadium der epochemachenden Entwicklungen hinsichtlich Technik und Absatzmarkt beendet ist.

Die Herstellungsverfahren für Aminosäuren sind in den letzten Jahren schnell verbessert worden. Es dürfte möglich sein, fast alle Aminosäuren in beliebigen Mengen bereitzustellen; Grenzen werden nur vom Preis gesetzt. Der große Markt für Aminosäuren, z. B. für Methionin, Lysin und Mononatriumglutamat als Nahrungs- und Futtermittelzusatz, ist eng mit den Problemen des Bevölkerungswachstums und der Ausnutzung der natürlichen Nahrungsquellen verknüpft und könnte auch von politischen und sozialen Veränderungen sowie einem Meinungs- und Geschmackswandel beeinflußt werden. Deshalb ist der zukünftige Aminosäurebedarf schwierig vorherzusagen. Darüber hinaus gibt es auch wirtschaftliche Schranken: je niedriger der Preis, um so größer wird der Bedarf sein und umgekehrt. Trotz dieser vielfältigen Probleme kann man der Aminosäure-Industrie für die fernere Zukunft eine günstige Prognose stellen.

Eingegangen am 14. März 1977 [A 204]
Übersetzt von Dr. Wolfram Bode, Martinsried

- [1] Werther, J. Prakt. Chem. 99, 6 (1866).
- [2] T. Kaneko, Y. Izumi, I. Chibata, T. Itoh: Synthetic Production and Utilization of Amino Acids. Kodansha, Tokyo, und Wiley, New York 1974.
- [3] K. Yamada, S. Kinoshita, T. Tsunoda, K. Aida: The Microbial Production of Amino Acids. Kodansha, Tokyo, und Wiley, New York 1972.

- [4] K. Kisumi, S. Komatsubara, I. Chibata, J. Biochem. (Tokyo) 72, 1065 (1972).
- [5] K. Kubota, K. Kageyama, T. Shiro, S. Okumura, J. Gen. Appl. Microbiol. 17, 167 (1971).
- [6] S. Kinoshita, K. Nakayama, S. Ueda, J. Gen. Appl. Microbiol. 3, 276 (1957).
- [7] S. Kinoshita, K. Nakayama, S. Kitada, J. Gen. Appl. Microbiol. 4, 128 (1958).
- [8] S. Okumura, M. Shibuya, S. Kotani, M. Ishida, T. Shiro, Agric. Biol. Chem. 28, 742 (1964).
- [9] K. Nakayama, S. Kitada, S. Kinoshita, J. Gen. Appl. Microbiol. 7, 52 (1961).
- [10] H. Kase, H. Tanaka, K. Nakayama, Agric. Biol. Chem. 35, 2089 (1971).
- [11] K. Kubota, T. Onoda, H. Kamijo, F. Yoshinaga, S. Okumura, J. Gen. Appl. Microbiol. 19, 339 (1973).
- [12] H. Kase, K. Nakayama, Agric. Biol. Chem. 39, 153 (1975).
- [13] M. Kisumi, S. Komatsubara, M. Sugiura, I. Chibata, J. Bacteriol. 110, 761 (1972).
- [14] I. Shioi, A. Sasaki, S. Nakamori, K. Sano, Agric. Biol. Chem. 37, 2053 (1973).
- [15] I. Shioi, S. Sugimoto, M. Nakagawa, Agric. Biol. Chem. 39, 627 (1975).
- [16] K. Sano, I. Shioi, J. Gen. Appl. Microbiol. 16, 373 (1970).
- [17] M. Kisumi, S. Komatsubara, I. Chibata, J. Biochem. (Tokyo) 73, 107 (1973).
- [18] K. Kitahara, S. Fukui, M. Misawa, Nippon Nogei Kagaku Kaishi 34, 44 (1960).
- [19] I. Chibata, T. Kakimoto, J. Kato, Appl. Microbiol. 13, 638 (1965).
- [20] I. Chibata, T. Tosa, T. Sato, Appl. Microbiol. 27, 878 (1974).
- [21] H. Yamada, H. Yoshida, Hakkō Kyōkaishi 32, 298 (1974).
- [22] T. Fukumura, Agric. Biol. Chem. 40, 1687 (1976).
- [23] S. Yamada, M. Yamamoto, I. Chibata, J. Agric. Food Chem. 21, 889 (1973).
- [24] S. Yamada, M. Yamamoto, I. Chibata, J. Org. Chem. 38, 4408 (1973).
- [25] T. Uzuki, N. Sato, T. Akashi, Jap. Pat. 45852 (1970).
- [26] C. Hongo, M. Shibasaki, S. Yamada, I. Chibata, J. Agric. Food Chem. 24, 903 (1976).
- [27] S. Yamada, C. Hongo, M. Yamamoto, I. Chibata, Agric. Biol. Chem. 40, 1425 (1976).
- [28] W. S. Knowles, M. J. Sabacky, Chem. Commun. 1968, 1445.
- [29] Y. Izumi, A. Tai: Stereo-Differentiating Reactions. Kodansha, Tokyo, und Academic Press, New York 1977.
- [30] Joint FAO/WHO Ad Hoc Expert Committee, WHO Techn. Rep. Ser. No. 522, 55 (1973).
- [31] S. Yamaguchi, T. Yoshikawa, S. Ikeda, T. Ninomiya, J. Food Sci. 36, 846 (1971).
- [32] T. Shiba, K. Nunami, Tetrahedron Lett. 1974, 509.
- [33] W. Pickenhagen, P. Dietrich, Helv. Chim. Acta 58, 1078 (1975).
- [34] P. van de Rovaart, J. Wuhrman, US-Pat. 3939044 (1975).
- [35] Hasegawa Kogyo Co. Ltd., Jap. Pat., Kokai 50-105867 (1975).
- [36] K. Kawashima, H. Itoh, I. Chibata, J. Agric. Food Chem. 25, 202 (1977).
- [37] Vassens Schoemaker N. V., Brit. Pat. 1405687 (1975).
- [38] Ajinomoto Co. Inc., Jap. Pat. 51-640 (1976).
- [39] J. Matsumoto, Jap. Pat. 49-25399 (1974).
- [40] Japan Institute of Physical & Chemical Research, Jap. Pat. 49-9342 (1974).
- [41] J. S. Dudrick, D. W. Wilmore, H. M. Wars, J. E. Rhoads, Surgery 64, 132 (1968).
- [42] D. W. Keller, K. L. Polakoski, Fertil. Steril. 26, 208 (1975).
- [43] E. M. Airaksinen, Ann. Clin. Res. 6, 33 (1974).
- [44] S. N. Young, T. L. Sourkes, Lancet II 897 (1974).
- [45] W. J. Griffiths, B. K. Lester, J. D. Coulter, H. L. Williams, Psychophysiology 9, 345 (1972).
- [46] D. A. Gerber, Arthritis Rheum. 12, 295 (1969).