

Eicosapentaenoic acide의 分離精製

金 又 俊

〈麗水水産專門大學 教授〉

1. 序 論

魚油에 高度不飽和脂肪酸의 함유량이 많으므로 魚肉의 食品學的 가치마저도 제대로 평가받지 못했으며 필수지방산들의 효과까지도 상쇄되어 평가되었다. 그러나 이들 필수지방산 보다도 몇배씩이나 불안정하고 처리하기 어려움 때문에 식품의 가치를 손상시켜 왔던 EPA, DHA의 여러가지 藥効가 밝혀지므로서 이의 가공방법 내지는 가공제품의 보존성까지도 필요성이 커졌다.

EPA, DHA의 藥効를 보면 일시적인 血壓降下劑가 아니고, 血管壁 확장작용, 血小板凝集抑制작용, 血壓降下작용, 血液 중의 중성지질을 體外로 배출하는 작용, 血液 중의 超高比重脂蛋白의 증가작용, 低比重脂蛋白 및 超低比重脂蛋白의 低下작용에 따른 cholesterol의 저하작용, 血液粘度의 저하작용, 腦硬塞防止作用, 心筋硬塞防止作用 등의 여러가지 작용을 가지므로서 成人病의 근원적인 예방효과가 있음이 확실해지고 있다. 값싼 원료로 가장 효과적인 정제방법을 찾기 위해 몇가지 방법을 검토해 보기로 한다.

2. 魚類의 EPA, DAH

종류가 많은 魚類가운데서도 붉은살 어류인

정어리, 고등어, 꽁치 등의 근육에 EPA, DHA의 함유량이 높다. 일반적으로 흰살 어류의 脂質함유량이 1% 미만인데 반해서 이를 붉은살 어류의 脂質함유량이 5~26%로 많아서 EPA나 DHA 자원으로 풍부하다. EPA나 DHA의 구성비도 정어리 脂質의 19.2%, 고등어 脂質의 18.7%, 꽁치 脂質의 15.4%나 된다.

이 가운데서도 값싸고 脂質의 함유량이 많으면서도 EPA와 DHA의 함유량이 많은 정어리의 섭취를 늘릴 필요가 있으며 分離, 濃縮, 精製하여 별도로 일정량씩 섭취할 필요도 있을 것이다. 高度不飽和脂肪酸이기 때문에 分離 精製하는데 많은 기술적인 어려움이 있으

표 1. 어류의 EPA 및 DHA 함유량(%)

지방산	어 종		
	정어리	고등어	꽁치
C12:0	0.1		
C14:0	7.8	5.6	8.4
C16:0	20.1	15.4	10.7
C18:0	5.5	3.1	1.7
C18:1	20.7	18.7	7.0
C18:2	3.6	1.1	1.3
C18:3	1.0	—	—
C20:1	3.5	10.8	19.7
C20:4	1.2	1.4	—
C20:5	14.6	8.1	4.9
C22:1	0.4	10.8	22.2
C22:6	4.6	10.6	10.5
C ₂₀ :5+C ₂₂ :6	19.2	18.7	15.4

나 계속하여 효과적이고 경제적인 방법을 연구하므로서 값싸고 손쉽게 필요한 양을 섭취할 수 있을 것이다.

3. EPA의 安定性과 利用

EPA, DHA와 같은 高度不飽和脂肪酸은 극히 산화되기 쉬우며 산화된 脂質은 인체에 해롭다. 일반적으로 不飽和脂肪酸중의 2중결합한개가 증가함에 따라 산화속도는 거의 2배가 되며 2중결합 2개를 갖는 linoleic acid에 비해서 2중결합 5개를 갖는 EPA는 거의 8배나 산화되기 쉽다. EPA와 DHA는 분자중에 5개와 6개의 2중결합을 가지므로 이들 혼합물은 oleic acid에 비해서 40배 가까이 산화되기 쉽다.

魚油중의 高度不飽和脂肪酸은 일차산화에 의해서 hydroperoxide가 되고 이 過氧化物이 重合되면 polymer, 2次산화되면 carbonyl화합물을 생성하며 이 酸化油는 여러가지 건강장해를 가져온다.

EPA의 安定성을 높이기 위해서는 EPA를 ethyl ester化하는 방법이 있다. EPA ethyl ester를 대기중에서는 30°C로 저장했을 때에 항산화제를 첨가하여도 산화억제가 안되거나 7°C로 저장하면 항산화제를 첨가하지 않아도 상당히 긴 기간 동안 산화를 억제할 수가 있다. ampoule에 封入하여 30°C로 저장했을 때는 항산화제 有無에 관계없이 封入때의 잔유산소에 의해서 初期酸化가 진행되거나 산소가 없어지면 그이상 산화가 진행되지 않는다. ampoul內를 N₂ gas로 충전하면 初期酸化도 억제할 수 있다. 따라서 산소가 없거나 저온상태에서는 보존성이 있음이 확인되며 EPA와 DHA의 함유농도가 높은 농축물의 품질유지를 위해서는 산소를 제거하는 것이 효과적이다. 이러한 방법으로는 gelatin capsule로 하는 방법이 좋은 것으로 알려지고 있다.

정어리를 鰵(膾)로 해서 먹을 수 있을 정도로 신선한 것을 섭취했을 때는 거의 자연상태의 EPA, DHA를 섭취할 수 있으며 저장방법만 좋으면 7개월까지도 거의 변화가 없다. 즉

-30°C로 정어리를 저장했을 때는 表皮의 脂質酸化가 약간 있을 뿐 근육중의 EPA, DHA는 거의 손상이 없다. 단기간저장에서는 partial freezing에서도 상당히 안정하다고 한다.

또한 정어리를 -20°C로 저장했을 때는 tocopherol 0.08% 첨가한 것을 glazing하면 6~7개월간 거의 안정하다. 정어리를 저장목적으로 가공하는 통조림에 있어서도 상당기간 동안 安定성이 있다.

EPA의 安定화를 위해서는 抽出된 유지를 安定성이 높은 一價의 不飽和脂肪酸이나 飽和脂肪酸을 함유하는 비교적 安定성이 좋은 유지와 ester교환반응을 시켜 安定성이 좋은 유지와의 혼합물과는 다른 유지를 만들 수 있다. ester교환반응을 한 유지는 水素添加處理와 같은 EPA 함유량의 低下나 trans異性體生成 없이 유지의 物性を 바꿀 수가 있다.

4. EPA의 分離精製

(1) Wintering법

抽出된 魚油를 그대로 하거나 alcohol과 같은 溶劑에 녹여 냉각시키므로서 析出하는 固體部를 제거하므로서 液狀의 不飽和脂肪酸의 농도를 높이는 방법이다.

이 Wintering법으로는 魚油의 구조상 농축에 한계가 있으며 분리된 것은 상당한 량의 飽和脂肪酸이나 低度不飽和脂肪酸 등이 함유되어 高度不飽和脂肪酸인 EPA의 농도를 크게 높이지 못하는 어려움이 있으나 적은 비용으로 EPA를 얻을 수 있어 상품으로서의 EPA 제조에 많이 응용되고 있는 방법이다.

건강식품으로 많이 상품화된 Capsule제품은 정어리油를 wintering법에 의해서 얻어진 液體油를 산화방지제로서 tocopherol 등을 첨가하여 gelatin capsule화한 것이다.

(2) 低溫分別結晶法

유지를 加水分解하여 脂肪酸을 얻어 脂肪酸중에 함유된 不鹹化合物 등 불순물을 제거한 뒤에 脂肪酸을 溶劑에 녹여 이를 저온에 방치하

표 2. 脂肪酸의 acetone 및 ethanol에 대한 용해도(용매 100g중 g)

脂肪酸	溶 媒	溫 度 °C				
		0	-20	-30	-40	-60
14 : 0	acetone	2.27	0.43	0.17		
	methanol	1.84	0.34	0.15		
16 : 0	acetone	0.66	0.10	0.05		
	methanol	0.40	0.06	0.02		
18 : 0	acetone	0.13	0.006			
	methanol	0.95	0.15	0.05		
18 : 1	actone		5.1	1.4	0.5	0.06
	methanol		4.0	0.9	0.3	0.05
18 : 2	acetone			27.2	8.6	1.42
	methanol			48.1	9.9	0.93

였을 때에 methanol 또는 ethanol에 대한 溶解度差로서 析出하는 結晶을 분리한다. 低溫分別法은 지방산의 有機溶媒에 대한 용해도의 차이를 응용한 것이다. acetone 및 methanol에 의한 지방산의 용해도는 표 2와 같다.

飽和脂肪酸은 -20°에서도 녹지 않으나 2중 결합이 있는 不飽和脂肪酸인 oleic acid부터는 -60°C에서도 거의 녹지 않는다.

(3) 鹽形成法

金屬염류의 유기용매에 대한 용해도를 응용한 방법으로 Na염 acetone법이 쓰여지고 있다. 高度不飽和脂肪酸의 Na염은 순수한 acetone에서는 難溶이므로 최종적으로는 acetone 농도를 90~95%로 조절하면 된다. 즉 지방산의 acetone용액을 약 4N의 alcohol性水溶化Na용액으로 중화한 뒤에 시료의 10~20배량의 acetone을 가하고 곧이어 물을 가해 acetone의 농도를 조절하면서 냉각한다. 이 때에 EPA와 같은 高度不飽和脂肪酸은 냉각온도가 상당히 낮아진다. 이 Na염으로 처리한 高度不飽和脂肪酸의 工價는 390~400이며 EPA와 DHA의 량은 70~80%에 이른다.

(4) 尿素付加法

일반적으로 지방산 또는 지방산의 methyl ester에 尿素의 methanol 용액을 가해서 약

50°C로 가열한 뒤에 室溫 또는 저온으로 방치하여 생성된 尿素付加物을 여과하여 분리한다. 지방산의 尿素付加物은 산화에 대해서도 비교적 안정하며 약간의 加溫에서도 쉽게 가수분해하여 지방산이 遊離되므로 遊離脂肪酸의 회수가 쉬운 잇점도 있다. 예로서 정어리油 혼합지방산의 尿素付加物을 -40°C에서 처리하여 점차로 尿素量을 늘려가면서 세번 이 방법을 반복하여 실시하면 최종적으로 얻어진 지방산의 양은 18%, EPA의 농도는 32%, DHA의 농도는 34%까지 얻을 수 있다.

(5) 減壓蒸溜 및 分子蒸溜法

지방산의 炭素數가 많아짐에 따라서 沸點이 높아지는 점을 이용하여 분리하는 방법으로 일반적으로 안정성을 부여하기 위해서 지방산의 methyl ester를 만들어 沸點을 낮게하여 減壓蒸溜한다. EPA는 減壓 5mm에서도 沸點은 200°C가 되며 DHA는 이보다 높다. 높은 농도와 높은 순도의 것을 얻기 위해서는 減壓蒸溜를 반복한다.

分子蒸溜法은 高眞空下에서 분자의 휘발성이 증가하여 휘발하는 점을 이용하는 방법이나 논리적으로는 沸點이 존재하기 어려우므로 溜出物과 濃度曲線에서 목적하는 성분의 溜出極大點을 찾을 수 있다. 高度不飽和脂肪酸을 methyl ester화하여 10⁻⁴mm 壓力下에서 이 분

子蒸溜法을 이용하면 매우 높은 순도의 EPA, DHA를 얻을 수 있다. 몇가지 脂肪酸 ethyl ester의 沸點을 보면 표 3에서와 같다.

표 3. 脂肪酸 ethyl ester의 沸點

脂肪酸 ethyl ester	沸 點
C ₁₄ Myristic acid	165°C
C ₁₆ Palmitic acid	191°C
C ₁₈ Stearic acid	199°C
C ₂₀ Eicosanoic acid	215°C
C ₂₂ Docosanoic acid	240°C

(6) 超臨界 Co₂ gas 精製法

超臨界 Co₂ gas법으로 抽出하면 EPA 9%, DHA 17%까지 얻을 수 있으며 尿素付加法和 같은 화학적방법을 병용하면 EPA, DHA의 90%까지를 회수할 수가 있다. 특징으로는 밀도의 변화는 용해력의 增減에 예민한 반응을 나타내므로 온도와 압력을 변화시키므로서 抽出物의 분리가 가능하며 Co₂는 쉽게 超臨界상태로의 設定이 쉬워 臨界溫度가 낮으므로 (31°C) 低溫下에서의 操作이 가능하다. 또한 蒸溜法에 비해서 熱에 대해 불안정한 물질의 취급에 효과적이다. Co₂는 화학적으로 안정하며 가격이 싸서 손쉽게 구할 수 있으면서 독성이 전혀 없어 매우 유용하다.

超臨界 Co₂ gas抽出과 蒸溜裝置를 併用하면 收率과 순도를 동시에 높일 수 있다. 즉 그림 1에서와 같이 抽出槽에서 脂肪酸 ester를 抽出한 超臨界 Co₂ gas는 가열장치를 통과할 때의 온도상승에 따라 밀도가 감소하여 휘발성이 낮은 성분은 응축하여 아래쪽에 모여 증류조작에 의한 還流效果를 가져오게 한다. 한편 가열장치를 통한 超臨界 Co₂ gas는 膨脹에서 減壓되어 抽出物을 분리한다. 다음 표는 fruction에서 분리된 것을 gas chromatography로 분석한 결과로서 농축분劃이 확실하게 나타나 있음을 알 수 있다.

Co₂ ester로는 收率 79.8, 純度 91.9%이고 EPA로서의 收率 77%, 純度は 48.2%이다.

超臨界 gas외에도 물이나 alcohol등을 entr-

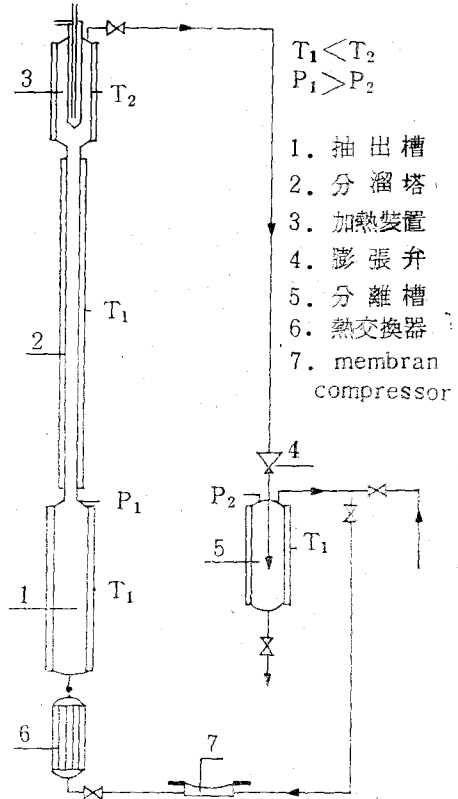


그림 1. 超臨界gas 分溜裝置

표 4. 분획된 脂肪酸組成(GC에 의한 결과)

分劃值 (g)	C ₁₄ (%)	C ₁₆ (%)	C ₁₈ (%)	C ₂₀ (%)	C ₂₂ (%)
911.6	11.0	48.9	37.2	—	—
122.6	—	3.6	92.0	2.2	—
97.6	—	1.9	70.1	26.0	—
68.7	—	—	46.2	52.8	—
55.5	—	—	34.2	64.7	—
54.1	—	—	23.6	75.5	—
70.0	—	—	13.3	85.3	—
305.8	—	—	2.6	95.8	—
41.2	—	—	—	72.6	25.2
73.0	—	—	—	9.2	89.8
127.1	—	—	—	—	84.5

ainer로 첨가하면 抽出能力과 選擇性を 향상시킬 수가 있다. 脂肪酸의 monoglyceride, diglycerid의 혼합물에서 monoglyceride를 抽

出分離할 때에 向流抽出조작을 도입한 장치를 가해서 aceton을 entrainer로서 사용하고 있다. 1.25kg의 원료에서 0.65kg/h의 glyceride를 抽出하면 95%는 monoglyceride이다.

5. Wintering 및 分子蒸溜法에 의한 製品性質

抽出된 정어리油를 脫酸, 脫色하고 wintering으로 不飽和脂肪酸의 농도를 높인다. 高眞空 短時間 分子蒸溜法으로 魚油중의 低分子 amine 화합물 등을 완전히 제거하므로써 脫臭, 농축한 뒤에 산화방지제로서 topocherol을 1% 이상 첨가하여 窒素充慎 caprule로 포장한다. 물리적인 제법으로 만들어진 제품의 性狀을 보면 다음과 같다.

표 5. EPA製品の 脂肪酸組成

脂肪酸	組成(%)	脂肪酸	組成(%)
C ₁₂ :0	trace	C ₂₀ :0	0.2
C ₁₄ :0	4.8	C ₂₀ :1	4.1
C ₁₅ :0	0.2	C ₂₀ :4w3	1.0
C ₁₆ :0	14.7	C ₂₀ :4w6	0.9
C ₁₆ :1	8.5	C ₂₀ :5	21.0
C ₁₇ :0	1.0	C ₂₂ :1	3.4
C ₁₈ :0	3.0	C ₂₂ :5	2.9
C ₁₈ :1	13.6	C ₂₂ :6	10.9
C ₁₈ :2	3.5	C ₂₄ :1	1.8
C ₁₈ :3	0.9		
C ₁₈ :4	3.2	unknown	0.4

脂肪酸의 組織은 표 5에서와 같이 EPA, DHA의 함유량이 32.8%로 높다.

또한 分子蒸溜에 의해서 有害물질이 檢出限界 범위에서 檢出되지 않았음을 표 6에서 볼 수 있다.

정어리油를 抽出, 精製하여 topherol 1%를 첨가하고 N₂ gas를 充慎하여 Capsule로 한 제품을 37°C Oven에서 산화정도를 시험한 결과를 보면 60일간 저장에서도 거의 변화가 없으나 Capsule이 아닌 공기중에 노출된 제품은 21일간 저장에서 POV가 처음에는 0이었던 것이 21일 뒤에는 50(meq/kg)로 증가하므로써 N

표 6. 有害物質 分析結果

區 分	결 과	檢 出 限 界
As	檢出 안됨	0.1ppm 이하
Pb	檢出 안됨	1ppm 이하
Total Hg	檢出 안됨	0.01ppm 이하
PCB	檢出 안됨	0.1ppm 이하
BHT	檢出 안됨	0.1ppm 이하
DDT	檢出 안됨	0.1ppm 이하
Aldrin	檢出 안됨	0.01ppm 이하
Endrn	檢出 안됨	0.01ppm 이하
Dieldrin	檢出 안됨	0.01ppm 이하

gas 증진하여 Capsule 보존하는 것이 큰 효과가 있음을 알 수 있다. 산화방지제 사용에 대한 최근의 연구보고에 의하면 EPA의 酸化防止에는 tocopherol보다 卵黃 lecithine의 효과가 더 큼이 알려져 있다.

6. 結 論

EPA와 DHA는 高度로 불안정하므로써 처리과정에서의 산화방지가 매우 힘들다.

또한 화학적인 처리에서는 용매 등의 과도한 비용과 약품에 의한 처리는 殘留藥成分의 유해성과 제품에 대한 손상 등이 문제가 된다. 分離精製에 있어서는 앞서 살펴 본 몇가지 방법 외에도 逆相分配型高速液體 Chromatography법에 의한 방법이 있으며 칼람을 크게 하므로써 비교적 많은 양을 처리할 수도 있다. 또한 高度不飽和脂肪酸을 methyl ester 화하여 gas chromatography로 분석하면 비교적 높은 순도의 EPA를 얻을 수 있다. EPA 및 DHA의 分離精製는 철저하게 保安되어 있어 알기가 힘들다. 성분상으로 안전하고 精製 방법으로 보아서 wintering법과 分子蒸溜法 超臨界 gas抽出法 등 물리적방법이 흔히 쓰이고 있는 것으로 봐 지며 어느 한가지 방법 뿐 아니라 2~3가지 방법을 종합적으로 이용하면 효과적일 것으로 사료되며 尿素付加法를 겸하여 좋은 효과를 얻은 결과도 보고되고 있다.

많은 연구가 이루어져 우리나라에서도 높은 순도로 정제된 EPA가 생산되어 싼값으로 보급되기를 바란다. <편집관계상 참고문헌은 생략함>