

상어간유에서 스쿠알렌과 알콕시글리세롤의 물성 및 추출

이수일*** · 허효정* · 노경호*†

*인하대학교 화학공학과
402-751 인천광역시 남구 용현동 253
**주식회사 세모
403-130 인천광역시 부평구 십정동 558-10
(2011년 1월 3일 접수, 2011년 1월 31일 채택)

Physical Property and Extraction of Squalene and Alkoxyglycerol from Shark Liver Oil

Su Il Lee***, Hyo Jung Heo* and Kyung Ho Row*†

*Department of Chemical Engineering, Inha University, 253 Yungheon-dong, Nam-gu, Incheon 402-751, Korea
**Semo Corporation, 558-10 Sipjeong-dong, Bupyeong-gu, Incheon 403-130, Korea
(Received 3 January 2011; accepted 31 January 2011)

요 약

심해상어 간유에서 추출한 천연유지는 스쿠알렌(Squalene)과 알콕시글리세롤(Alkoxyglycerol)을 함유하고 있다. 본 연구에서는 심해상어 간유에서 피부 보호능력이 있는 스쿠알렌과 면역작용이 우수한 알콕시글리세롤을 추출하고 GC-MS 분석을 통하여 정제과정을 거친 스쿠알렌과 알콕시글리세롤의 함량 변화를 비교하고 스쿠알렌과 함께 물성을 평가하였다. 스쿠알렌의 함량은 정제과정을 거친 뒤에 35% 더 증가하였으며 알콕시글리세롤의 함량은 21.9% 더 증가한 것을 볼 수 있었다. 상어간유를 알콕시글리세롤 정제과정을 통해 지방산은 61%에서 4%로 57%의 지방산이 제거된 것을 확인할 수 있었고, 지방산 중 Palmitic acid와 Oleic acid의 함량이 크게 감소된 것을 확인할 수 있었다. 상어간유에 과산화물과 산가는 스쿠알렌 정제과정을 거친 후 크게 낮아진 것을 확인하였고 불포화 지방산이 이중결합이 많은 스쿠알렌이 스쿠알란(Squalane)보다 요도드가가 월등히 큰 것을 확인하였다.

Abstract – A simple method has been successfully applied to extract squalene and its byproducts alkoxyglycerol from deep-sea shark liver oil. GC-MS was used to determine the extraction amount of the squalene and alkoxyglycerol, and the content of them in rough product and refined product were compared. The physical property of squalene was identified by measuring the pH value, peroxide value and iodine value. Under optimum extraction conditions, the amount of squalene and alkoxyglycerol increased 35.0% and 21.9%, respectively, while the amount of fatty acid decreased from 61% to 4%, especially, the amount of palmitic acid and oleic acid remarkably decreased. Large amount of peroxide and acid were removed from shark liver oil after refining process. Because squalene contains lots of double bond, so the value of iodine is much higher than squalane.

Key words: Shark Liver Oil, Squalene, Alkoxyglycerol, Separation, Physical Property

1. 서 론

현대인의 불규칙한 식사, 스트레스, 과다한 운동, 음주 및 흡연 등은 간에 산화적 스트레스 일으키는 원인으로 주목되고 있다. 간은 인체에서 가장 큰 장기며 물질의 대사 및 이물질에 대한 해독작용 및 외부자극 및 손상에 대해 직접 반응하기 때문에 간염이나 간경화 등 간장에 질환을 유발하기 쉽다[1,2].

간의 산화적 스트레스를 억제하는 항산화제에 대한 연구가 활발히 진행이 되면서 상어간유는 노르웨이나 스웨덴의 서부 해안지역에서 사는 어부들 사이에 오래 전부터 민간의 약용으로 사용되었다.

심해상어 간유에서 추출한 유지계 물질에는 림프조직 및 조혈기관에 존재하며[3,4] 지방산이 에스테르 결합으로 연결되어 있는 알콕시글리세롤과 인체에서 합성되는 스쿠알렌이 포함되어 있는데, 알콕시글리세롤은 인체시험에서 에테르 결합 화합물의 항산화 역할을 함으로써 방사선에 의한 손상을 감소시키는 데 효과적이며 하이드록실 라디칼을 만들기 위해 물을 이온화함으로써 이 이온화한 방사선이 조직을 파괴한다고 보고되었다.

알콕시글리세롤은 알킬글리세롤, 글리세릴 에테르 리피드라고 부른다. 그 구조식은 Fig. 1의 (a)에서 보여지는 바와 같이 트리글리세롤과 유사하지만 글리세라이드 분자의 1번 탄소에 지방산이 에테르 결합을 이루며 체내에서 지방분해효소인 리파제에 의해 분해되지 않는 특징을 가진다. 고온의 증류과정을 포함하고 있는 스쿠알렌에는

† To whom correspondence should be addressed.
E-mail: rowkho@inha.ac.kr

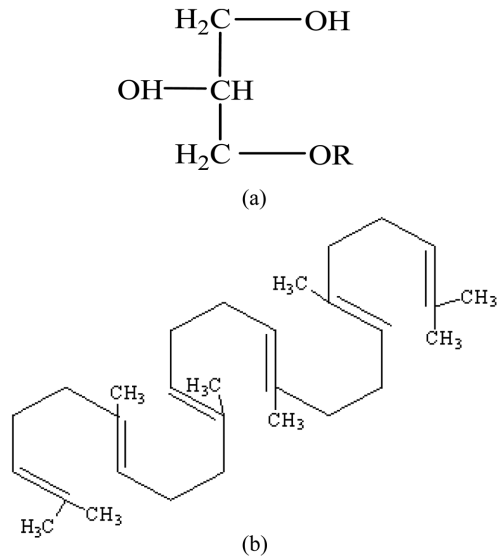


Fig. 1. The chemical structure of alkoxyglycerol (a) and squalene (b).

지방산이 존재하지 않지만 고온의 증류과정을 포함하고 있지 않은 알콕시글리세롤은 상어간유의 지방산을 일부 포함할 수 있다.

글리세릴 에테르는 긴 체인 지방성 알코올의 알파 글리세릴 에테르이다. 이 에테르 결합은 알칼리성 가수분해에 저항성이 있다. 그 에테르 결합이 올레일 알코올로 이루어지면 이 글리세릴 에테르는 셀라칠 알코올이라 불리고 스테아로일 알코올인 경우 바틸 알코올이며 팔미토일 알코올인 경우 키밀 알코올이라 부른다. 글리세롤의 나머지 두 하이드록실 그룹이 지방산으로 에스테르화되면 그 분자는 알콕시디글리세리드라 한다[5,6]. 최근에 발표된 연구에서 키밀 알코올은 심근손상과 관련된 허혈 재관류 손상을 감소시키는 데 효과적이었다고 발표하였다[7].

Fig. 1의 (b) 구조를 가지고 있는 스쿠알렌(C₃₀H₅₀)은 심해상어 간유에서 추출되는데 콜레스테롤의 생합성에 아주 중요한 선구 물질로써 심해상어, 올리브유 등에 많이 함유되어 있고, 주로 동물의 간에서 합성이 이루어지며 부, 복부지방조직, 피하지방조직, 림프질, 체장 및 심장근 등에 다량 포함되어 있다[8].

이전의 연구 사례에서는, 이소프로테리놀을 투여하여 심근경색을 유발한 쥐에게 스쿠알렌을 섭취시킨 결과, 혈액중의 ALT, AST, LDH, CPK 등 효소가 정상수준으로 감소하고 성장조직에서 GSH, GPX, CAT, SOD 등과 같은 항산화 관련 효소가 정상수준으로 증가한다는 것이 밝혀졌다[9].

스쿠알렌은 6개의 이중결합이 있어 산소이온과 쉽게 결합할 수 있다. 때문에 유해 산소에 대한 제거능력이 있으며 상처 치유의 능력이 있다. 스쿠알렌은 과산화가 쉽게 되지 않으며 피부에서 오히려 산소 유리기를 소멸시켜 피부가 자외선에 노출되거나 다른 산화손상으로부터 지질이 과산화되는 것을 막아 피부를 보호한다. 또한, 활성 산소종을 제거하여 안정화시키고 항산화제를 활성화시켜 조직을 보호하고 생명을 연장하는 효과가 있다. 인체 표피의 스쿠알렌은 과산화 유리기(peroxide radical)의 공격에도 안정적이어서 지질 과산화 현상이 일어나는 것을 적절한 양으로 막아주는 역할을 함으로써 피부가 보호를 받게 해준다[10]. 혈관 확장, 동맥경화 억제 작용, 심근경색, 간질환 등에 효과가 있으며[11], 화상 치료[12], 카드뮴의 독성 완화[13], 항암효과[14] 등도 보고되었다.

본 연구에 도입된 스쿠알렌의 추출방법은 국내에는 유일한 주식회사 세모의 독자적인 기술로, 1982년 별도의 실험 장비 없이 상어간유에 250도의 열을 가해 증류하는 아주 위험한 실험을 통하여 소량의 스쿠알렌을 얻었으며 이 기초적인 실험을 시작으로 수년간의 실험을 거친 결과 증류와 검화작업을 통해 정제도가 향상되어 99.9+% 순도의 스쿠알렌을 얻을 수 있었다. 또한, 그 부산물로 잔여물에서 알콕시글리세롤을 정제해 낼 수 있는 지금의 기술력에 이르러 처음에 20% 정도 밖에 얻을 수 없었던 알콕시글리세롤에 검화작업을 도입하고 추가함으로써 그 함량을 두 배 이상으로 증가시킬 수 있었다.

정제된 스쿠알렌을 수소와 결합시키면 이중결합이 끊어지면서 스쿠알란(C₃₀H₆₂)을 얻을 수 있는데 스쿠알렌 특유의 비린내가 없어지고 색상 또한 투명해진다. 이 포화도가 높아진 스쿠알란은 극도의 안정성으로 섭취 시 위산과의 반응이 없으며 대부분 장내 유희활동을 돕고 인체 외로 배출되고 유화가 쉬운 특성으로 여러 제형이 가능해 기초화장품, 유연화장품에도 응용이 가능하다. 하지만 스쿠알란을 정제할 때 필요한 수소첨가공정이 매우 까다롭고 위험하기 때문에 현재 국내에서는 스쿠알란의 정제, 상용화 기술이 부족하며 세계 시장에서는 일본의 키시모토사가 반독점적으로 공급하고 있는 실정이다.

본 연구에서는 심해상어 간유에서 스쿠알렌과 알콕시글리세롤을 추출하여 GC-MS를 이용하여 추출된 물질을 분석하고 스쿠알렌과, 스쿠알렌보다 안정하지만 국내에 상용화 기술이 부족한 스쿠알란의 산화, 과산화물, 요오드가와 그 밖의 다양한 기초적 물성을 측정하여 이를 비교함으로써 국내 기술력의 향상에 이바지하고자 한다. 스쿠알렌과 알콕시글리세롤의 추출 및 분석과 그 물질의 특성 비교는 앞으로의 다양한 연구 분야에서 다양하게 적용될 수 있는 기초적 연구가 될 것이다

2. 실험

2-1. 재료 및 시약

인도양에 서식하는 심해상어 간유로부터 얻은 주식회사 세모의 2010년산 알콕시글리세롤유지를 사용하였다. 유지의 검화과정을 거쳐 상어간유 불검화물을 얻었으며 잔류염기를 제거하기 위해 세척하고 산화 안전성을 위해 질소충전을 하여 냉장 보관하였다.

실험에 쓰인 초산, 크로모포름, 무수황산 나트륨은 DC Chemical (Korea)에서 구입하였고 녹말과 헵탄, 페놀프탈레인 시약은 Junsei chemical(Japane)의 제품을 사용하였다. 0.1 N 티오황산나트륨과 에탄올, 에테르, 수산화 칼륨 용액은 Oci chemical(Korea)에서 구입하였으며 BF₃는 Wako(Japane)에서, 요오드화 칼륨 용액은 Duksan pure chemical(Korea), 윗지 시약은 Dae jung(Korea)에서 구입하여 사용하였다.

2-2. 기기

스쿠알렌과 알콕시글리세롤의 분석에는 GC-MS(모델명 GC MS-17A) 시스템에서 모델명 Mass QP5000의 디텍터가 사용되었으며 컬럼으로는 H1 Column(30 m × 0.25 mm ID)와 2560 Column(50 m × 0.32 mm ID)의 두 가지 컬럼이 사용되었다.

기초 물성 측정에서 pH는 pH meter(Hanna Instrument, HI8424, USA)를 이용하여 상온에서 측정하였고 electrical conductivity meter (Weilheim, LF 340, Germany) 전도도계를 사용하였다. 비중 측정에는 일반형 비중계(YOKOTA, 분해능 0.001 길이 310 mm A Type,

Japan)를 사용하였으며 Grabner instruments(MINIFLASH FLPH Tester, Grabner, Austria), 모델의 Quality Certified ISO 9001 : 2000, 측정범위 0~110 °C의 인화점 측정기를 사용하였다.

2-3. 실험 방법

상어 간유로부터 스쿠알렌과 알콕시글리세롤의 추출과정에서 얻을 수 있는 물질은 크게 불검화물(unsaponifiable matter)과 검화물(saponifiable matter)로 구분되며 불검화물엔 스쿠알렌과 알콕시글리세롤이 포함되고, 검화물에는 지방산이 포함된다. 지방산에는 Myristic acid, Palmitic acid, Palitoleic acid, Stearic acid, Oleic acid, Vaccenic acid, Gondoic acid, Erucic acid, Nervonic acid 등이 있으며 불검화물의 함량을 높이기 위하여 다년간의 연구결과로 도입된 수산화나트륨을 이용한 검화작업을 거쳐 지방산을 제거한다.

추출, 정제된 스쿠알렌과 알콕시글리세롤의 분석은 [식품의약품안전청]의 <건강기능식품공전>에서 건강기능식품의 기준 및 규격에 근거하여 실험을 진행하였으며 <식품공전>의 일반시험법 중 화학적 시험법에 따라 지방산 함량을 분석하였고 스쿠알렌과 스쿠알란의 기초물성 외의 산가, 과산화물가, 요오드가의 분석 실험을 진행하였다.

2-3-1. 스쿠알렌의 추출

스쿠알렌을 추출하는 방법을 간략하게 Fig. 2에 도식화로 나타내었다. 스쿠알렌의 추출효율을 높이기 위해 가장 먼저 150 °C에서 예열작업을 하여 상어간유의 수분을 제거하고 250 °C에서 1차 증류를 한 후 수산화나트륨으로 검화하여 물로 5회 세척하고 다시 2차 예열작업(150 °C)을 거쳐 240 °C에서 2차로 증류한 후 수산화나트륨, 에탄올, 물 등을 첨가하여 검화물을 제거하고 스쿠알렌을 추출하였다.

2-3-2. 알콕시글리세롤의 추출

Fig. 2에 나타낸 바와 같이 스쿠알렌을 추출해 낸 상어간유에서 부산물로 유용한 항산화 물질인 알콕시글리세롤을 얻기 위하여 실험을 진행하였다. 상어간유를 가열 증기로 착유하여 남은 원유에 에탄올

5%를 첨가하고, 수산화나트륨을 각각 5, 4, 3, 2, 1%씩 첨가하여 지방산인 검화물을 여러 차례 제거하였다. 이로 인해 불검화물 함량이 높아진 검화물을 원심분리하고, 검화물 속에서 불검화물을 추출하여 알콕시글리세롤의 추출함량을 높였다.

2-3-3. 지방산 분석

지방 및 유지 검체 약 25 mg을 유리 튜브에 취하여 0.5 N 수산화나트륨용액 1.5 mL를 가하여 질소를 불어 넣은 후 즉시 뚜껑을 덮고 혼합한다. 100 °C의 heating block에서 약 5분간 가온하고 30~40 °C로 냉각한다. 여기에 다시 14%의 트리플루오르보란 메탄을 용액을 2 mL 가하고 질소를 불어 넣은 후 즉시 뚜껑을 덮고 혼합하여 100 °C에서 30분간 가온한 후, 30~40 °C로 냉각한다. 냉각된 검체에 이소옥탄용액 1 ml를 가하여 질소를 불어넣은 후 뚜껑을 덮어 냉각된 온도 그대로 에서 30초간 격렬히 교반한다. 다시 포화 염화나트륨용액 5 ml를 가하고 질소를 불어 넣어 격렬히 교반시킨 후, 상이 분리되도록 상온에서 방치한다. 상층인 이소옥탄층은 무수황산나트륨이 있는 새 유리 튜브에 넣고 질소를 불어 넣은 후 즉시 뚜껑을 덮고 GC-MS에서 컬럼으로 2,560 column(50 m × 0.32 mm ID)을 사용하여 Table 1의 조건으로 분석하였다.

2-3-4. 스쿠알렌과 알콕시글리세롤의 분석

지방산 분석에 이용된 GC-MS를 이용하여 분석하였다. 컬럼은 H1 Column(30 m × 0.25 mm ID)로 교체하여 사용하였다. Injector의 온도는 260 °C, Interface의 온도는 260 °C로, 나머지 조건은 Table 1과 동일한 조건으로 실험을 진행하였다.

스쿠알렌을 GC-MS로 분석하기 위해 이소프로필알콜로 녹여 내부 표준 용액으로 사용하고 스쿠알렌 표준품을 내부 표준 용액에 넣고 헥산으로 녹인 다음 검체를 달아 내부 표준용액과 헥산을 넣어 녹이는 전처리 과정을 거친다.

알콕시글리세롤이 포함되어 있는 불검화물을 함유한 에테르 층을 분석에 사용하기 위하여 검체 5g에 환류 냉각기를 장치하여 100 °C에서 1 N 수산화나트륨용액 50 mL를 첨가하여 1시간 30분 동안 혼합한 후, 에탄올을 증발시켜 열수를 가한다. 다시 에테르로 수회 세척하고 에테르 층을 모두 모아 물 30 mL를 첨가하여 20분 정도 교반하고 물층을 제거한다.

위의 과정을 물 층이 페놀프탈레인 시약으로 적정하였을 때 붉은 색이 나타나지 않을 때까지 반복한다.

에테르 층을 무수황산나트륨으로 탈수시켜 증발 건조한 후, 중량을 칭량하여 불검화물 양으로 하고 불검화물 중의 스쿠알렌의 양(토코페롤을 첨가한 경우 토코페롤량 포함)을 GC-MS로 측정하여 다음 식 (1)에 대입하여 알콕시글리세롤의 함량 W(%)을 구한다.

$$W(\%) = \frac{\text{불검화물의 양(g)} - \text{스쿠알렌의 양(g)}}{\text{검체 채취량(g)}} \times 100 \quad (1)$$

W=알콕시글리세롤의 함량

Table 1. GC-Mass analytical condition for the purification of unsaponifiable matter from shark liver oil

Injection volume	1 µl
Carrier gas	Helium
Ratio	150:1
Oven	140 (3 min) to 240 (10 min) at 5/min
Flow rate	1.5 mL/min

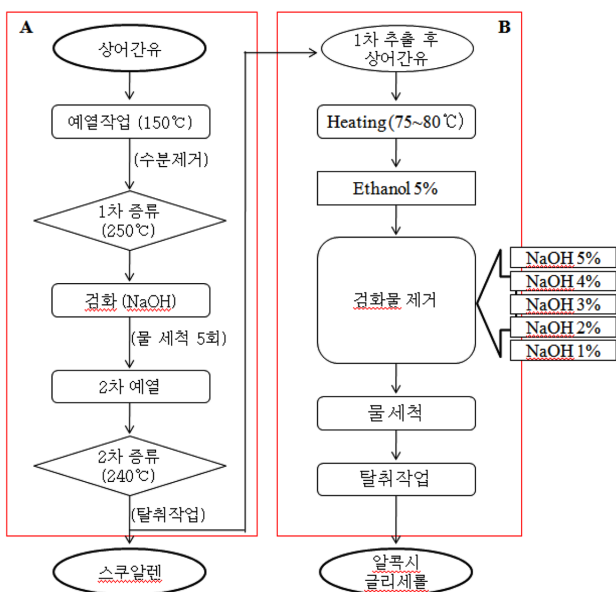


Fig. 2. Extraction of squalene and alkoxyglycerol from shark liver oil (A: extraction process of squalene, B: extraction process of alkoxyglycerol).

2-3-5. 물성측정

스쿠알렌과 스쿠알란은 일반적으로 육안으로 정확히 분리해 내는 것은 매우 어렵기 때문에 스쿠알렌과 스쿠알란의 특성 비교에 대한 데이터 확립을 위하여 pH와 전기전도도 표면장력, 비중, 인화점의 기초적인 물성에 대한 측정실험을 진행하였으며 기초적인 물성 이외에 스쿠알렌과 스쿠알란의 산패도와 신선도 등을 알아 볼 수 있는 산가, 과산화물가, 요오드가를 아래와 같은 실험을 통해 측정하여 그 특성을 비교, 평가하였다. 다음 아래의 식 (2)~(4)는 각각 산가와 과산화물가, 요오드가를 구하는 식이다.

$$S(\%) = \frac{5.611 \times \text{적정소비량}(g) \times 1}{\text{시료 량}(g)} \quad (2)$$

$$K \text{ (meq/kg)} = \frac{(0.01 \text{ N 적정소비량} - 0.05) \times 1}{\text{시료 량}(g)} \times 10 \quad (3)$$

$$I \text{ (g)} = \frac{(V_0 - V) \times 0.01269 \times F}{\text{시료 량}(g)} \times 100 \quad (4)$$

S = 산가(%)

K = 과산화물가(meq/kg)

I = 요오드가(g)

V₀ = 공시험에서 0.1 N Na₂S₂O₃ 용액의 소비량(mL)

V = 본 실험에서 0.1 N Na₂S₂O₃ 용액의 소비량(mL)

F = 0.1 N Na₂S₂O₃ 용액의 농도계수

2-3-5-1. 산가 측정

시료 5~10 g을 정밀히 달아 마개 달린 삼각 플라스크에 넣고 중성의 에탄올과 에테르 혼합용액(에탄올/에테르, 1/2) 100 mL를 넣어 녹인 후, 티놀프탈레인 시약을 2~3방울 가하여 0.1 N 수산화칼륨용액으로 적정한다. 산가는 적정에 소비된 수산화칼륨용액의 양과 식 (2)를 이용하여 구할 수 있다.

2-3-5-2. 과산화물가 측정

1~5 g 정도의 시료를 각각 삼각플라스크에 준비한다. 준비된 시료를 25 mL의 초산과 클로로포름의 혼합용액(초산/클로로포름, 3/2)으로 녹인 후, 포화요오드칼륨용액 1 mL를 첨가한다. 어두운 곳에서 10분간 방치하고 다시 물 30 mL를 첨가하여 전분 시약 1 mL를 넣어 0.01 N 티오황산나트륨용액으로 적정한다. 식 (3)을 이용하여 과산화물가를 구한다.

2-3-5-3. 요오드가 측정

불포화도를 나타내는 요오드가를 측정하기 위하여 시료(고체지방 : 1 g, 불건성유: 0.3 g, 반건성유: 0.2 g, 건성유: 0.1 g)에 클로로포름 용액 약 10 mL와 윗지 시약 25 mL를 차례로 첨가하여 밀봉한 후, 가볍게 흔들여 암소에 방치한다(불건성유는 30분, 반건성유는 1시간, 건성유는 약 3~4시간 정도 암소에 방치).

10%의 요오드화 칼륨 용액 20 mL에 증류수 100 mL를 첨가하여 혼합하고, 전분 지시약 1 mL를 가하여 청색이 없어질 때까지 0.1 N 티오황산 나트륨 용액으로 적정한다. 식 (4)를 이용하여 요오드가를 구한다.

3. 결과 및 고찰

3-1. 지방산 분석

GC-MS를 이용한 지방산 분석의 결과는 Fig. 3에서 확인할 수 있

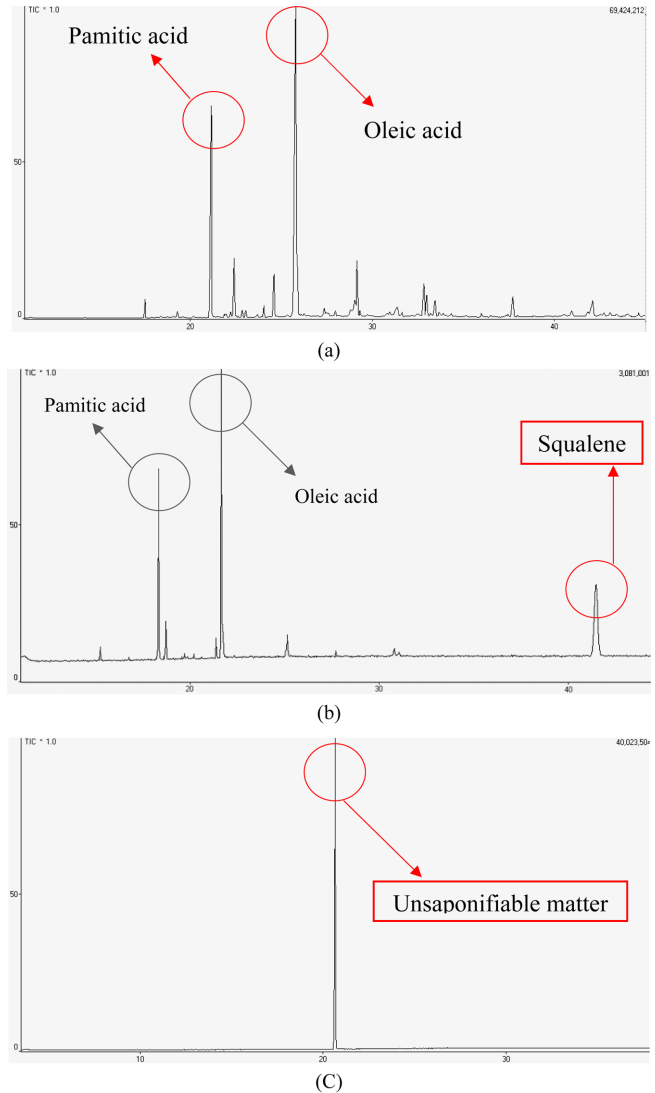


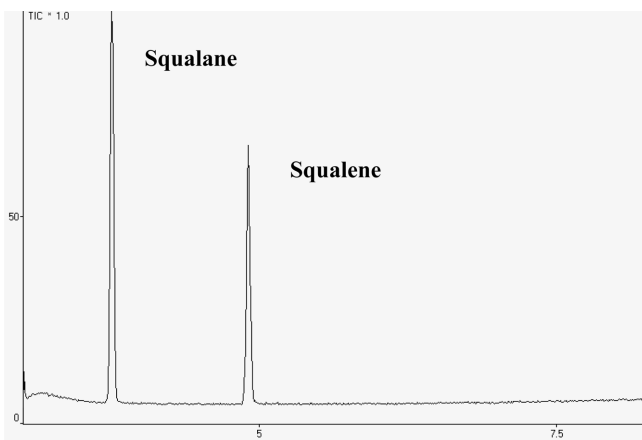
Fig. 3. Typical GC chromatogram of fatty acid is in shark liver oil ((a): crude oil of shark liver, (b): after extraction procedure of squalene, (c): after extraction procedure of raw materials).

다. Fig. 3의 (a)는 상어간유의 분석결과이고 (b)는 Fig. 2의 공정과정에서 스쿠알렌을 추출하는 A 과정을 거쳐 나온 물질의 분석 결과이다.

Fig. 3의 (a)의 결과에서 보이는 많은 피크들은 검화물인 지방산들이며 그 중 가장 많은 비중을 차지하는 성분은 Pamitic acid와 Oleic acid인 것을 확인할 수 있었으며 이 결과는 Table 2의 스쿠알렌 추출 전의 상어간유의 지방산 분석 데이터에서 각각 23.3%와 45.8%의 함량이라는 구체적인 수치로 확인되었다. 스쿠알렌과 알콕시글리세롤의 추출공정을 모두 거친 후, 상어간유의 지방산은 검화물들을 제거하는 검화과정을 거치면서 눈에 띄게 줄어든 것을 볼 수 있었는데, 검화작업을 거치게 되면 수산화나트륨의 OH기가 글리세롤에 결합되어 알콕시글리세롤의 함량이 높아지고 Na기는 지방산과 결합하여 세척 시 물로 씻겨져 내려가므로 지방산이 제거되어 불검화물의 함량은 높아지고 검화물인 지방산의 함량은 감소시킬 수 있다. 이 결과는 역시 Table 2에서 구체적인 수치로 분석결과를 비교해 볼 수 있으며 특히 지방산중에 매우 높은 함량을 차지하고 있던 Pamitic acid는 22.78%, Oleic acid는 무려 42.95%나 감소한 것을 볼 수 있었다.

Table 2. Fatty acids compositions (%) of unsaponifiable matter from shark liver oil before and after the extraction step

Fatty acid	Before (%)	After (%)
Myristic acid(C14:0)	1.3	0.02
Palmitic acid(C16:0)	23.3	0.52
Palmitoleic acid(C16:1)	5.2	0.08
Stearic acid(C18:0)	3.8	0.02
Oleic acid(C18:1n9c)	45.8	2.85
Vaccenic acid(C18:1n7)	3.7	0.02
Gondoic acid(C20:1)	6.7	0.05
Erucic acid(C22:1n9)	5.7	0.03
Nervonic acid(C24:1)	2.7	0.02
Unknown	1.8	0.01
Total	100	3.62

**Fig. 4. Squalene content in unsaponifiable matter of shark liver oil (Analysis by GC-MS, H1 column (30 nm × 0.25 mm ID), Injector temp.: 260 °C, Interface temp.: 260 °C, refer to Table 1).**

그 밖의 Gondoic acid와 같은 지방산들의 함량 또한 현저히 감소하였다.

Fig. 2의 (b)에서 40분 이후의 피크는 스쿠알렌이며 Fig. 2의 검화공정을 거친 추출과정을 통해 얻어진 불검화물을 분석한 결과 검화공정을 통해 스쿠알렌의 추출량이 늘어난 것을 볼 수 있다.

스쿠알렌을 추출한 후의 상어 간유는 다시 알콕시글리세롤을 추출하기 위한 공정과정 Fig. 2의 B 과정을 거쳐 검화물을 제거하여 알콕시글리세롤의 함량을 높은 정제된 불검화물을 GC-MS로 분석하여 그 분석결과를 Fig. 3의 (c)에 나타내었다.

3-2. 스쿠알렌과 알콕시글리세롤의 분석

알콕시글리세롤은 순수하게 단독으로 있을 수 없어 스쿠알렌과 함께 공존하기 때문에 불검화물의 함량과 스쿠알렌의 함량을 분석함으로써 알콕시글리세롤의 함량을 계산할 수 있다.

Fig. 4는 부산물인 알콕시글리세롤의 공정(Fig. 2B)을 거친 후 불검화물에서 스쿠알렌과 알콕시글리세롤 함량을 GC-MS로 분석한 결

Table 3. GC-Mass analysis of squalene and alkoxyglycerol in the unsaponifiable matter from shark liver oil

Compounds	Concentration (wt%)		
	Before	after	
Unsaponifiable matter	Squalene	21	56
	alkoxyglycerol	18.1	40
	Total	39.1	96
Saponifiable matter	Fatty acid	61	4

과 그래프이며 이 그래프로 분석된 스쿠알렌의 함량을 통해 식 (1)을 대입하여 알콕시글리세롤의 함량을 계산하고 그 측정값들을 Table 3에 나타내었다.

Table 3에서 보여지는 바와 같이 추출과정(Fig. 2)을 거친 후에 불검화물의 함량은 크게 증가하며 검화물의 함량은 크게 줄어든 것을 확인할 수 있었다. 스쿠알렌과 알콕시 글리세롤의 함량은 각각 21%와 18.1%에서 56%와 40%로 약 2배 이상으로 높아지며 상대적으로 지방산 함량은 61%에서 4%로 매우 크게 감소하였다.

종합적으로 검화공정이 포함된 추출공정을 통해 검화물인 지방산의 함량을 많이 줄일 수 있었으며 불검화물의 함량은 크게 증가시킬 수 있었다.

3-3. 물성 측정

측정된 스쿠알렌과 스쿠알란의 물성을 Table 4에 나타내어 비교하였다. 스쿠알렌과 스쿠알란은 전기전도도가 없는 순수한 물질이며 표면장력과 비중을 비교해 보았을 때 표면장력은 스쿠알렌이, 비중은 스쿠알란이 조금 더 높은 물성적 수치를 나타내었으나 두 물질의 기초적인 물성적 차이는 그리 크지 않다는 것을 확인할 수 있었다.

기초물성평가 중 pH에서는 스쿠알렌은 알칼리성을 스쿠알란은 산성을 띄는 차이를 확인할 수 있었는데 이는 스쿠알란이 스쿠알렌에 수소를 첨가 함으로써 만들어지기 때문에 수소의 결합수가 늘어나 pH가 낮아지는 현상으로 보인다.

인화점은 0~110 °C 범위의 인화점 측정기로 측정할 수 없는 110 °C 이상으로 매우 높은 인화점을 갖고 있어 두 물질 모두 발화의 위험성이 적은 매우 안정성이 높은 물질이라는 것을 확인할 수 있었다.

스쿠알렌만의 산패도와 신선도를 평가할 수 있는 산가, 과산화물가의 실험에서 대체적으로 상어간유가 정제되기 전의 과산화물가와 산가가 높고 정제후의 값은 낮은 것을 볼 수 있어 산패도와 신선도가 정제과정 이후에 더 좋아 지는 것을 알 수 있었으며 스쿠알렌은 불포화 지방산 이중결합을 갖고 있기 때문에 스쿠알란보다 오오드가 월등히 크며 산소와 결합력이 우수하여 활성산소제거에 용이한 특성을 보여주지만 스쿠알란보다는 안정성이 높지 않아 공기와의 접촉 산소와 결합하기 때문에 산패도가 떨어지는 것을 확인할 수 있었다.

Table 4. Physical properties of squalene and squalane

Compounds	pH	Electric conductivity (uS/cm)	Surface tension	Specific gravity	Flash point (°C)	Acid value (%)	Peroxide value (meq/kg)	Iodine value (g)
Shark liver oil	-	-	-	-	-	0.31	4.08	30
Squalene	9.65	0.0~0.1	25.3	0.854	Over 110	0.05	0.1	401.66
Squalane	4.36	0.0~0.1	24.9	0.865	Over 110	0.05	0.1	0.5

4. 결 론

본 연구에서는 상어간유에서 스쿠알렌과 알콕시글리세롤을 추출하고 스쿠알렌과 함께 그 물성적 특징을 비교하였다.

GC-MS 분석기기를 사용하여 정제 전과 후의 상어간유 물질의 변화를 면밀히 비교 관찰하여 추출 물질에 대한 함량 분포를 확인하였으며 스쿠알렌과 알콕시글리세롤의 성분별 함량을 파악하여 추출과 정제된 정도를 평가할 수 있었다.

검화과정이 포함된 추출공정을 통해 검화물인 지방산의 함량을 많이 줄일 수 있었으며 추출과정 전과 후의 지방산의 분포에 따른 함량의 변화를 수치적으로 비교하여 확인할 수 있었다. 불검화물의 함량은 검화과정이 진행됨에 따라 크게 증가하였고, 따라서 불검화물에 포함되어 있는 스쿠알렌과 알콕시글리세롤의 추출효율을 효과적으로 증가시킬 수 있었다.

또한 다양한 물성을 측정하고 비교해 봄으로써, 스쿠알렌이 지니고 있는 이중결합이 끊어지고 수소의 결합수가 늘어나 스쿠알렌을 형성하기 때문에 그 물성적 특성에 차이가 나타나는 것을 살펴볼 수 있었다.

본 연구에서 도입한 스쿠알렌 및 알콕시글리세롤의 추출 정제방법 및 물성적 특징의 비교연구는 앞으로의 상어간유의 연구 평가 방법에도 다양하게 적용될 수 있을 것으로 기대되는 바이다.

감 사

본 연구는 2010년도 주식회사 세모의 지원을 받아 수행되었습니다.

참고문헌

1. Bonney, R. J., Becker, J. E., Walker, P. R. and Potter, V. R., "Primary Monolayer Cultures of Adult Rat Liver Parenchymal Cells Suitable for Study of the Regulation of Enzyme Synthesis," *In Vitro.*, **9**(6), 399-413(1974).
2. Moldeus, P., Hogberg, J. and Orrenius, S. "Isolation and Use of Liver Cells," *Meth. Enzymol.*, **52**, 66-72(1978).

3. Hallgren, B. and Larsson, S., "The Glyceryl Ethers in Man and Cow," *J. Lipid. Res.*, **3**, 39-43(1962).
4. Hallgren, B. and Larsson, S., "The Glyceryl Ethers in the Liver Oils of Elasmobranch Fish," *J. Lipid. Res.*, **3**, 31-38(1962).
5. Blomstrand, R. and Ahrens, E. H. Jr., "Absorption of Chymyl Alcohol in Man," *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **100**, 802-805(1959).
6. Brohult, A., "Alkoxyglycerol-esters in Irradiation Treatment," *Advances in Radiobiology(Proc. of the 5:th Int. Conf. on Radiobiology, Stockholm)*, **2**, 241-248(August, 1956).
7. Maulik, N., Tosaki, A., Engelman, R. M., Cordis, G. A. and Das, D. K., "Myocardial Salvage by 1-o-hexadecyl-sn-glycerol: Possible Role of Peroxisomal Dysfunction in Ischemia Reperfusion Injury," *J. Cardiovas. Pharmacol.*, **24**, 486-492(1994).
8. Liu, G. C. K., Ahrens, E. H. Jr., Schreiberman, P. H. and Crouse, J. R., "Measurement of Squalene in Human Tissue and Plasma," *J. Lipid. Res.*, **17**, 38-45(1976).
9. Sabeena Farvin, K. H., Anandan, R., Kumar, S. H., Shiny, K. S., Sankar, T. V. and Thankappan, T. K., "Effect of Squalene on Tissue Defense System in Isoproterenol-induced Myocardial Infarction in Rats," *Pharmacological Research*, **50**(3), 231-236(2004).
10. Kohno, Y., Egawa, Y., Itoh, S., Nagoka, S., Takahashi, M. and Mukai, K. "Kinetic Study of Quencher Reaction of Singlet Oxygen and Scavenging Reaction of Free Radical by Squalene in n-Butanol," *Biochim. Biophys. Acta.*, **1256**(1), 52-56(1995).
11. Budiarso, I. T., "Fish Oil Versus Olive Oil," *Lancet*, **336**, 1313-1314(1990).
12. Kim, J. S., Yoon, J. S., Choi, Y. B., Choi, K. P., Kim, J. S. and Chung, S. M., "Healing Effects of Squalene on the Epidermis in Burned Mouse," *Kor. J. Electron Microscopy*, **29**(2), 163-175(1999).
13. Kim, J. S. and Yoon, J. S., "Effect of Squalene on Mouse Liver Toxicity with Cadmium," *Kor. J. Electron. Microscopy.*, **30**(2), 141-152(2000).
14. Yamawaki, M., Azuma, I., Saiki, I., Uemiya, M., Aoki, O., Ennyu, K. and Yamamura, Y., "Antitumor Activity of Squalene Treated Cell Wall Skeleton of *Nocardiarubra* in Mice," *Gann.*, **69**(5), 619-626(1978).