

## 효소적 수식에 의한 어유의 기능성 개선

김 세 권 / 부경대학교 교수

### 머 리 말

최근 수산물 및 수산가공식품에 대한 국민의 선호도가 높아짐에 따라 수산가공공장에서 가공율도 증가하고 있으며, 이로 인한 어두, 내장 및 어피 등과 같은 수산가공부산물의 배출량도 상대적으로 많아지고 있는 실정이다. 이들 수산가공부산물 중에는 단백질, 탄수화물 및 지방과 같은 유용한 성분이 다량 함유되어 있음에도 불구하고 현재까지 대부분 사료로 이용되거나 폐기되어져 자원의 효율적인 활용이 제대로 이루어지지 않고 있을 뿐만 아니라 환경오염까지도 유발하고 있다. 따라서 수산가공부산물 중에서 유용물질을 분리 회수하여 생물공학적인 방법을 통한 고부가가치의 기능성 식품소재로 전환하여 이용효율을 높일 수 있다.

특히, 수산가공부산물 중에서 어유는 육상의 동물유에 비하여  $\omega$ -3계의 다중불포화지방산인 eicosapentaenoic acid

(EPA)와 docosahexaenoic acid (DHA)가 다량 함유되어 체내의 콜레스테롤 농도를 낮추어 주는 역할을 하여 관상동맥질환<sup>1),2)</sup>, 혈전증 및 암<sup>3),4)</sup> 유발을 억제하는 것으로 알려져 있다. DHA는 망막 및 뇌 조직의 주요 성분으로 정어리, 꽂치, 멸치, 고등어 및 참치와 같은 등이 푸른 어류의 총 지질 중에 약 11~13% 정도가 함유되어 있으며, 특히 참치의 안구지방 중에는 30% 이상의 고농도로 들어 있다<sup>5)</sup>.

DHA 및 EPA 뿐만 아니라 지질을 구성하고 있는 지방산들은 인체에서 세포 내외의 영양소와 필수성분의 투과성을 조절하는 세포막의 구성성분이 된다. 지질의 구성성분인 지방산은 소화관내에서 더 이상 가수분해되지 않고 직접 흡수되어 그 자체가 생리활성을 갖는 경우가 많으므로 효과적인 기능성 지질의 하나로서 주목받고 있다.

기능성 지질은 지질을 생산하는 동·식물의 유전자 변형에 의해 기능성 성

분의 함량을 증진시키는 방법과 화학적 합성에 의한 방법으로 생산되고 있다. 그러나 이러한 방법으로 생산된 기능성 지질은 안전성에 대한 문제가 대두되어 최근에는 지방가수분해효소인 리파제(lipase, E.C. 3.1.1.3, triacylglycerol acylhydrolase)를 이용한 생물공학적인 방법이 사용되고 있다. 이 방법은 고온, 고압이 필요한 화학적 방법에 비해 에너지를 절감할 수 있을 뿐만 아니라 생산공정의 안정성이 높으며, 또한 효소의 특이성에 의해 목적으로 하는 물질만을 얻을 수 있고, 생체축매를 이용함으로써 인체에 대한 안전성이 확보된다는 장점이 있다.

리파제는 단백질 가수분해효소인 프로테아제(protease), 전분가수분해 효소인 아밀라아제(amylase)와 함께 3대 가수분해효소 중의 하나이지만 그의 공업적 이용은 적어 소화제, 식품이나 분석연구 등에 한정되어 사용되고 있다. 그러나 최근에는 다양한 분야에서 리파제의 이용가능성에 대한 연구가 이루어지고 있다. 리파제의 주요 기능은 축매 작용으로 지질의 에스테르결합의 분해, 생성 및 교환반응에 관여한다<sup>6),7)</sup>. 그 중에서 가장 많이 연구되고 있는 것은 천연의 지질에 대한 가수분해반응이며, 지질을 분해시켜 그 생성물인 지방산을 이용하는 것과 그 분해작용을 이용하여 의약 및 식품분야에 응용하는 것이다. 또한 지질의 에스테르 합성 및 교환반응을 이용하여 지질의 품질을 향상시키는 연구도 이루어지고 있다. 리파제는 동·식물 및 미생물에 많이 분포되어 있기 때문에 그 유래에 따라 위치특이성, 지질특이성, 지방산특이성 및 입체

특이성을 가지므로 목적으로 하는 기능성 지질의 종류에 따라 특정한 리파제를 선택하는 것이 중요하다.

최근 효소의 이용효율을 높이기 위한 고정화 방법으로 분리막 장치와 반응기를 조합시킨 막효소반응기를 이용한 지질 및 지방산의 가수분해, 에스테르합성에 관한 연구가 이루어지고 있다. 고분자 기술의 발달에 의해 막의 재질은 매우 다양한데, 일반적으로 지질의 가수분해 공정에 많이 사용되는 막은 중공사막이다. 막효소반응기에서 리파제에 의한 지질의 가수분해반응은 효소가 반응하는 동시에 생성물을 분리할 수 있어 기질저해를 방지할 수 있으며, 효소의 안정성으로 인해 장시간 반응을 할 수 있을 뿐만 아니라 에너지 비용을 절감할 수 있으며, 좁은 장소에도 설치 및 운전이 가능하여 기술적, 경제적인 측면에서도 장점이 많아 관련 연구의 필요성이 더욱 높아지고 있다.

지질의 가수분해반응 및 에스테르 합성반응에 의해 생성되는 기능성 지질로는 모노글리세리드(monoglyceride), 디글리세리드(diglyceride), 트리글리세리드(triglyceride), 단일 및 다중불포화지방산, 포화지방산, 중간사슬 지방산, 지방산알콜 등이 있으며, 그 기능에 따라 식품, 건강보조식품, 의약품, 의약품첨가물, 화장품 등의 산업에 폭넓게 사용될 수 있다.

따라서 필자는 세계 10대 해양국으로서 수산가공업이 발달된 우리나라의 수산가공부산물 중 대부분 폐기되고 있는 어유를 부가가치가 높은 산업에 활용할 수 있도록 유도하기 위하여 어유의 특성, 지질가수분해효소인 리파제의

특성, 지질의 에스테르 가수분해반응, 에스테르 합성반응 및 에스테르 교환반응, 기능성 지질의 종류와 아울러 기능성 지질의 산업적 이용에 관하여 서술하고자 한다.

## 1. 어유의 특성 및 이용

최근에 식생활의 형태와 성인병의 관계가 밝혀지면서 식품은 단순한 영양학적인 가치와 기호성에서 벗어나 건강지향을 위한 생리기능성 물질로서 주목받고 있다. 특히, 식품중의 지질은 심질환, 동맥경화, 암 등과 깊은 관련이 있다는 사실이 과학적으로 증명되어 이들 질병을 예방하기 위한 새로운 기능성 지질의 개발이 요구되고 있는 실정이다.

식생활이 수산물을 중심으로 하는 에스키모인과 일본인은 혈전성 질환이 적다는 사실로부터 1970년대 이후 어유중에 함유되어 있는 EPA와 DHA에 관한 연구가 본격적으로 시작되었다. EPA는

1980년대에 주로 정어리유에서 추출된 EPA (순도 약 25%)가 캡슐로 만들어 건강식품으로 판매되었으며, 1990년대에는 EPA 에틸에스테르 (순도 90%)가 의약품으로 시판되었다. EPA와 DHA는 같은 어종의 어유 중에 일반적으로 10~16%와 5~10% 정도가 함유되어 있으며, 선택적으로 분리하려면 다단계 정제공정이 필요하다.

최근 지질의 생리기능성에 관한 연구의 결과에서 필수지방산은 리놀레산 (linolic acid),  $\gamma$ -리놀렌산 ( $\gamma$ -linolenic acid) 및 아라키돈산 (arachidonic acid)의  $\omega$ -6계와  $\alpha$ -리놀레산, EPA 및 DHA의  $\omega$ -3계의 두 종류로 구분되며, 체내에서 이들 지방산의 생리조절기능은 두 종류의 지방산의 균형이 중요시되고 있다.

$\omega$ -3계의 다중불포화지방산은 육상 동물·식물에서는 거의 존재하지 않고 해양세균, 해조, 어류 등의 해양생물에 존재하며, 그 중에서 대표적인 지질자원인 어유에 가장 많이 함유되어 있다 (표 1)<sup>8)</sup>.

표 1. 어종에 따른 어유의 지방산 조성

지방산	연어	청어	가자미	대구	돼지	소	대두유
14:0	4.64	6.14	0.74	0.92	1.4	3.3	-
16:0	18.53	18.90	16.81	22.59	20.4	26.6	11.3
16:1	2.31	6.19	2.14	4.73	3.5	4.1	-
18:0	1.94	1.30	3.69	2.13	10.1	18.2	3.4
18:1	20.85	27.76	49.22	34.39	47.5	41.2	23.1
20:1	0.78	0.53	0.26	0.48	2.7	-	-
22:1	13.52	15.88	5.99	3.75	-	-	-
18:2 $\omega$ -6	1.12	0.55	0.41	0.47	12.1	3.3	55.8
18:3 $\omega$ -3	18.10	13.42	7.10	1.30	1.4	-	6.4
20:4 $\omega$ -6	-	-	6.85	0.12	-	-	-
20:5 $\omega$ -3	5.97	4.52	1.37	18.67	-	-	-
22:5 $\omega$ -3	1.08	0.27	0.44	1.36	-	-	-
22:6 $\omega$ -3	8.37	2.96	1.31	27.98	-	-	-

FAO (유엔식량농업기구)의 수산통계에 의하면 1999년도의 세계 수산물 총 생산량은 1억2천6백17만 톤으로 1998년도의 1억1천7백72만 톤보다 7.2%가 증가한 것으로 나타났다<sup>9)</sup>. 이중에서 식용 소비량은 9천2백60만 톤으로 1998년도의 9천3백30만 톤에 비해 0.8% 감소하였으나 어분 및 어유의 생산에 사용되는 양은 3천40만 톤으로 1998년도에 비해 27.2%가 증가하였다. 국내의 경우, 1999년도 수산물 총 생산량은 2백42만3천 톤으로 1998년도의 2백35만4천 톤보다 2.9% 증가하였으며, 어유의 생산량은 수입량을 합하여 약 24만 톤 정도로 국외의 생산량에 비하면 매우 적은 양으로서 폐기되는 수산부산물에서 어유의 회수가 요구되고 있다<sup>10)</sup>.

어유에 다량 함유되어 있어 식품으로 이용되는  $\omega$ -3계 및  $\omega$ -6계의 불포화 지방산은 우수한 생리기능성이 있음에도 불구하고 열과 산소에 불안정하기 때문에 산업적으로 이용하는데 한계가 있다. 이러한 어유를 고부가가치의 건강보조식품, 의약품 및 화장품 산업에 이용하기 위해서는 생물공학적인 방법 또는 효소적 방법에 의한 기능성 개선이 필요하다.

## 2. 리파제의 특성

효소는 일반적으로 같은 작용을 하면서도 그 유래에 따라 성질이 조금씩 차이가 있는 것이 많다. 예를 들면 프로테아제는 단백질의 특정 아미노산 결합에 작용하는 수종의 효소가 알려져 있고, 아밀라아제도 다소 유래가 다른 효소가 있으며, 전분의 분해위치에 따라 각종의 올리고당이 생산되고 있다.

리파제는 트리글리세리드를 글리세린과 지방산으로 가수분해하는 효소이지만 그 반응성은 효소의 유래에 따라 서로 다른 특이성을 갖는다. 리파제의 특이성은 가장 널리 알려져 있는 트리글리세리드의 분해위치에 따른 위치특이성과 지방산 및 아실글리세롤 (acylglycerol)의 종류에 따른 기질특이성이 있다(표 2).

리파제에 의해 촉매되는 반응은 에스테르 가수분해, 합성 및 교환반응이 있으며, 이러한 리파제의 촉매성질을 이용하여 특정 생산물의 수율과 정제도를 높일 수 있다. 따라서 목적으로 하는 최종 생산물을 얻기 위해서는 가장 적당한 특이성을 갖는 리파제의 선택이 중요하므로 이해를 돕고자 동·식물 중에 널리 분포되어 있는 리파제의 유래와 특이성에 관하여 서술하고자 한다.

표 2. 리파제의 주요 특이성 및 응용

특 이 성	리파제의 유래	응 용
위치특이성 1,3-위치특이성	<i>Rhizomucor miehei</i>	트리글리세리드 합성
	<i>Rhizopus oryzae</i> <i>Phizopus arrhizus</i>	
	<i>Rhizopus delemar</i>	트리글리세리드 가수분해에 의한 1,2(2,3)-디글리세리드 생성 지방산 에스테르화에 의한 1,3-디글리세리드 생성
	<i>phizopus niveus</i> 돼지췌장 리파제	트리글리세리드의 가수분해에 의한 2-모노글리세리드 생성 지방산의 에스테르화에 의한 1(3)-모노글리세리드 생성
비특이성	<i>Candida rugosa</i> <i>Chromobacterium viscosum</i>	가수분해에 의한 지방산 생성
	<i>Pseudomonas fluorescens</i> <i>Pseudomonas cepacia</i>	가수분해에 의한 모노 및 디글리세리드 생성
지방산 특이성 긴 사슬 다중불포화 지방산 포화지방산 시스- $\Delta^9$ 불포화 지방산 짧은 사슬 지방산	<i>Geotrichum candidum</i> <i>Candida rugosa</i>	선택적 가수분해
	<i>Fusarium oxysporum</i> <i>Geotrichum candidum B</i>	선택적 가수분해 선택적 가수분해
	<i>Cuphea sp.</i>	선택적 가수분해
아실글리세롤 특이성 모노글리세롤 모노 및 디글리세롤 트리아실글리세롤	Potato acylhydrolase (patatin)	지방산의 에스테르화에 의한 모노글리세리드 생성
	<i>Penicillium camembertii</i> <i>Penicillium cyclopium M1</i> <i>Fusarium sp.</i>	지방산의 에스테르화에 의한 모노 및 디글리세리드 생성
	<i>Penicillium roquefortii</i> <i>Penicillium cyclopium M1</i> <i>Penicillium expansum</i>	트리글리세리드 가수분해 또는 알콜분해에 의한 1,2-디글리세리드 생성

### 2.1 위치특이성

트리글리세리드는 2개의 제 1급 알콜의 에스테르와 한 개의 제 2급 알콜의 에스테르를 함유하고 있으며, 이들 에스테르에 대한 분해작용은 리파제의 종류에 따라 큰 차이가 있는 것으로 알려져 있다.

동물유래의 리파제의 연구에서 Savary 등<sup>11)</sup>과 Mattson 등<sup>12)</sup>은 1,3위치와 2위치에 포화 및 불포화지방산을 가진 트리글리세리드를 합성하고, 그것을 내장 리파제로 분해하여 생성된 지방산, 모노글리세리드 및 디글리세리드 각각에 대한 요오드가를 측정하여 위치특이성을 조사한 결과, 1,3위치가 팔미트산 (palmitic acid), 2위치가 올레산 (oleic acid)인 트리글리세리드는 요오드가가 낮은 지방산과 높은 모노글리세리드가 얻어지고, 1,2위치가 팔미트산, 3위치가 올레산인 트리글리세리드는 요오드가가 낮은 모노글리세리드가 얻어져 위치특이성이 증명되었다. 이들 리파제의 위치특이성은 기체크로마토그래피 및 얇은

막크로마토그래피와 같은 분석기술의 발달로 더욱 명확하게 밝혀졌다. Berner 등<sup>13)</sup>에 의해 각종 동물 유래의 리파제의 위치특이성에 관한 연구결과(표 3), 척추동물 유래의 리파제는 트리글리세리드의 1,3위치를 특이적으로 분해하지만 무척추동물의 유래의 경우는 비특이적으로 분해하는 것으로 밝혀졌다.

미생물 유래의 리파제의 위치특이성에 관하여 Alford<sup>14)</sup>는 73개 균주의 미생물에 대하여 연구하였는데, 합성 트리글리세리드로부터 생성할 수 있는 지방산 조성을 측정하여 위치특이성의 유무를 구분하였다(표 4). Okumura 등<sup>15)</sup>은 *Aspergillus niger*, *Rhizopus delemar*, *Geotrichum cadidum* 및 *Penicillium cyclopium* 유래의 리파제에 대해 특이성을 조사한 결과, *Geotrichum*과 *Penicillium* 유래의 리파제는 위치특이성이 없지만 *Aspergillus*와 *Rhizopus* 유래의 리파제는 1,3위치만 분해시킬 수 있었다고 하였다.

표 3. 동물유래의 리파제에 의해 코코넛 버터로부터 얻어진 분해물의 지방산의 조성

리파제의 유래	분해시간 (분)	pH	지방산		
			C <sub>16</sub>	C <sub>18:1</sub>	C <sub>18</sub>
-	—	—	29.8 <sup>a)</sup>	35.6 <sup>a)</sup>	34.6 <sup>a)</sup>
사람 <sup>c)</sup>	3	8.0	45	7	48
원숭이 <sup>c)</sup>	2	8.0	47	5	48
돼지 <sup>c)</sup>	2	7.0	48	5	45
쥐 <sup>c)</sup>	2	8.0	52	3	45
닭 <sup>c)</sup>	2	7.0	51	9	40
거북 <sup>c)</sup>	2	8.0	57	3	40
상어 <sup>c)</sup>	5	9.0	NR <sup>b)</sup>	—	—
가재 <sup>d)</sup>	5	4.0	52	17	31

a) 코코넛버터에 함유되어 있는 지방산의 상대적인 양(%)

b) NR, 반응이 일어나지 않음

c) 체장을 이용

d) 간체장을 이용

표 4. 여러 가지 미생물에서 추출된 리파제의 위치특이성

위치특이성	미생물
트리글리세리드의 1위치	<i>Pseudomonas fragi</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Pseudomonas geniculata</i> , <i>Candida lipolytica</i> , <i>Phycomyces nitens</i> , <i>Mucor sufu</i> , <i>Penicillium</i> <i>roqueforti</i> , <i>Rhizopus oligosporus</i> , <i>Chaetostylum</i> <i>fresnei</i> , <i>Thamnidium elegans</i>
트리글리세리드의 1, 2 또는 3위치	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Aspergillus flavus</i>
올레산의 위치	<i>Geotrichum candidum</i>

식물종자 유래의 리파제의 위치특이성은 아주까리종자 유래의 리파제에 관한 연구가 보고되어 있는데 Noma 등<sup>16)</sup>은 1-모노올레산과 2-모노올레산이 같은 속도로 분해되어 위치특이성이 없는 것으로 밝혀졌다. Aizono 등<sup>17)</sup>은 쌀 유래의 리파제에 대하여 연구한 결과, 1,3-위치를 우선적으로 분해하지만 분해 후에 다시 합성이 진행되어 위치특이성이 없는 것으로 결론지었다.

## 2.2 기질특이성

리파제의 기질은 트리글리세리드가 가장 일반적이지만 트리글리세리드에 함유된 짧은 사슬에서 긴 사슬까지 각종 지방산에 대한 특이성 및 글리세린 이외의 알콜에 대한 기질특이성에 관한 연구도 보고되어 있다.

Mattson 등<sup>18)</sup>은 리파제를 사용하여 선형사슬 알콜과 지방산의 에스테르의 분해속도를 측정한 결과, 모든 알콜에 대해 부티르산 (butyric acid)과 라우르산 (lauric acid)의 분해속도가 가장 높

았으며, 발레르산 (valeric acid)과 카프로산 (caproic acid)의 분해속도가 낮았다고 하였다. 또한 알콜 중에서는 1-펜탄올 (1-pentanol)의 분해속도가 최소였으며, 1-헵탄올 (1-heptanol)이 최대였다고 보고하였다. Mani 등<sup>19)</sup>은 에틸렌글리콜 (ethyleneglycol)의 디에스테르 (diester)를 사용하여 각종 지방산의 분해속도를 측정한 결과, 라우르산, 미리스트산 (myristic acid), 팔미트산, 스테아르산 (stearic acid) 및 올레산은 거의 같은 속도로 분해되었지만 카프로산은 스테아르산 보다 빠르고, 아라키돈산은 올레산 보다 늦게 분해된다고 보고하였다.

미생물 리파제의 기질 특이성에 관한 연구결과<sup>20)</sup>, *P. cyclopium* 유래의 리파제는 C<sub>4</sub>를 중심으로 한 저급 지방산을 잘 분해시키고, *G. candidum* 유래의 리파제는 중쇄 지방산을, *A. niger*와 *R. delemar* 유래의 리파제는 카프릴산 (caprylic acid), 카프로산 (capric acid) 및 라우르산을 중심으로 분해시키는 것으로 보고되어 있다. *C. cylindracea* 유

래의 리파제는 라우르산을 가장 잘 분해하였는데, 이 효소로 각종 천연유지를 분해하여 생성된 지방산의 비로부터 지방산이 분해되기 쉬운 위치가 C<sub>18:3</sub>>C<sub>18:2</sub>>C<sub>18:1</sub>≐>C<sub>18</sub>>C<sub>22:1</sub>의 순으로 밝혀졌다<sup>21)</sup>.

### 2.3. 그 외의 특이성

효소의 작용에는 활성을 가장 잘 나타내는 최적 pH가 있으며, 그 pH 범위로부터 크게 벗어나게 되면 활성이 현저하게 감소한다. 리파제는 중성부터 산성영역으로 최적 pH를 가진 것과 알칼리 영역으로 최적 pH를 가진 것으로 나눌 수 있다. 트리글리세리드가 분해되어 지방산이 생성되면 pH는 낮아져 산성으로 되기 때문에 이용하는 측면에서 산성 리파제를 사용하는 것이 좋지만 세제로 이용되는 리파제는 알칼리성 리파제가 사용되고 있다.

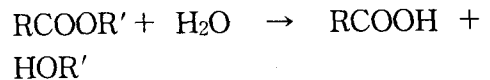
pH 이외에 반응온도도 효소활성에 영향을 미치는 요인중의 하나로서 대부분의 리파제의 최적온도는 30~40°C 범위이지만 *Pseudomonas* sp.와 *Humicola* 은 내열성 리파제를 생성하는 미생물로서 유지분해에 관한 연구도 수행되고 있다. 글리세린, 소르비톨 (sorbitol) 및 슈크로오스 (sucrose)와 같은 다가화합물들은 수용액에서 효소의 열안정성을 향상시키는 것으로 알려져 있다<sup>22),23)</sup>.

## 3. 리파제에 의한 지질의 기능성 개선

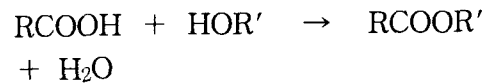
리파제의 기능 중에서 가장 광범위하게 이용되고 있는 것이 에스테르 결합의 가수분해 작용이다<sup>24),25)</sup>. 기질인 지

질로서 자연계에 존재하는 트리글리세리드가 대부분이지만 다른 에스테르류에도 반응할 수 있다. 저급 지질의 기능성을 개선하는데 사용되는 리파제는 지질의 에스테르 결합의 가수분해작용 뿐만 아니라 에스테르 합성작용 및 에스테르 결합의 교환작용이 있다(그림 1).

#### (1) 에스테르의 분해반응



#### (2) 에스테르의 합성반응

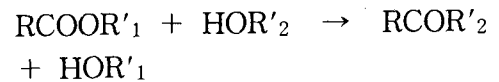


#### (3) 에스테르의 교환반응

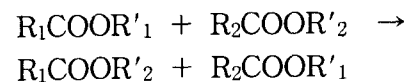
##### 1) 산분해



##### 2) 알콜분해



##### 3) 에스테르 교환



##### 4) 아민분해

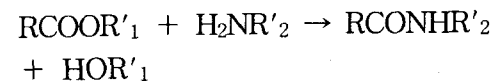


그림 1. 지질에 대한 리파제의 촉매작용.

3.1. 지질의 에스테르 결합의 가수분해 리파제의 주요 작용중의 하나가 지질의 에스테르 결합을 분해하는 기능으로 트리글리세리드를 기질로 한 경우, 가수분해물은 지방산과 글리세린이다. 고급 알콜의 에스테르를 기질로 하는 경우도 있으며, 수많은 에스테르 결합에



도 적용시킬 수 있다. 그러나 리파제는 수용성 단백질이므로 지질을 가수분해시키기 위해서는 반응계가 에멀전 형태로 분산되지 않으면 안되기 때문에 그에 따른 단점으로 인해 소규모로 한정되어 사용되고 있다<sup>26),27)</sup>.

지질의 가수분해는 ① 지질의 유화상태를 보존하기 위한 혼합력이 필요하다, ② 고체지방 그대로는 교반될 수 없다, ③ 리파제가 유화제의 작용을 하기 때문에 생성물의 분리에 시간이 걸린다, ④ 충분한 유화상태를 가진 상태로 반응을 연속화 하기 위해서는 우수한 유화제가 필요하지만 반응종료 후 생성물의 분리에 어려움이 있다, ⑤ 고정화 리파제에 대해서는 물과 지질이 혼합하지 않기 때문에 지질의 확산이 제한적으로 이루어지는 어려움이 있다.

Kimura 등<sup>28)</sup>은 리파제를 안정하게 반복하여 사용할 목적으로 뷰렛폴리머법에 의한 효소의 고정화에 의한 반연속가수분해 장치를 개발하였다 (그림 2). 이 장치는 원료탱크에서 물과 지질의 혼합액을 고정화된 리파제 칼럼에 반복하여 통과시켜 가수분해시킬 수 있다. 이 장치를 활용하면 한번 사용하여 97%의 가수분해율이 얻어지지만 두 번째 사용하면 약 87%로 낮아진다. 일반적으로 고정화 리파제를 이용하는 방식은 지질 중의 불순물과 생성물 저해로 인해 효소의 재활용이 효과적이지 못한 단점이 있다.

리파제를 고정화시키지 않고 그대로 사용하여 지질을 가수분해할 경우, 보통 효소용액과 액상의 지질을 섞어 혼합한다. 여기에 사용되는 유화제는 효소용액과 지질의 유화력을 높여 두 계면

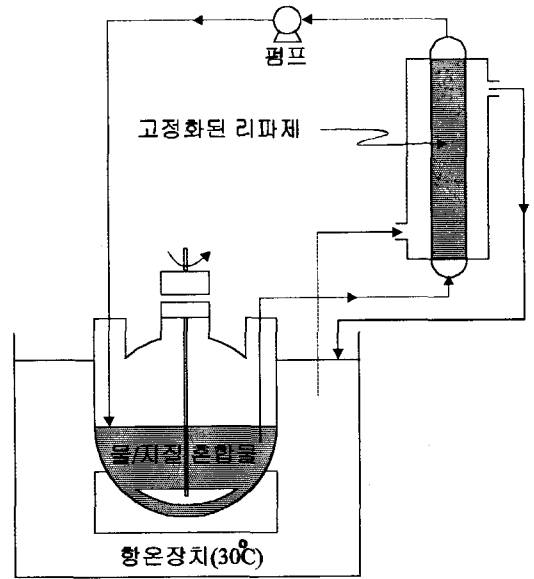


그림 2. 리파제의 고정화에 의한 반연속가수분해 장치.

사이의 접촉면적이 많아지므로 효소의 작용을 극대화시킬 수 있다. Yamane<sup>29)</sup>은 4종의 리파제로 올리브유의 가수분해시 유화제인 폴리비닐알콜 (polyvinylalcohol)의 첨가 유무에 따른 지방산의 생성량을 측정 한 결과, 폴리비닐알콜을 첨가한 경우에서 지방산의 함량이 감소하였는데 이것은 폴리비닐알콜이 리파제의 활성을 저해하기 때문인 것으로 밝혀졌다. 赤池<sup>30)</sup>는 고상정치가수분해 방식이라는 비혼합방식을 개발하였다. 즉, 냉각한 효소용액과 용융된 지질을 충분히 혼합하여 부드러운 크림상으로 만들어 일정한 온도에서 가수분해하는 방식이다. 크림상은 고체 지질을 함유한 물과 기름의 에멀전으로 충분히 혼합되어 만들어지며, 우지의 경우 35°C 이하에서 4일 후에 가수분해율은 95%까지 도달된다. 이 방법은 교반동력에

테르 합성능이 확인되었다. 제 3알콜, 당알콜 및 페놀류에 대해서 4종의 리파제는 모두 올레산과의 에스테르 합성이 되지 않았다고 보고한 바 있다.

글리세리드는 글리세린 4 ml, 1% (w/v) 카제인 용액 0.5 ml, 지방산 0.1 g, 리파제 용액 0.5 ml (30 Units)로 구성된 반응액을 30°C에서 16시간 동안 200 rpm으로 교반하여 합성시킨다. 리파제의 특이성을 기초로 하여 글리세리드 합성경로의 차이가 밝혀지게 되었는데 2-위치를 에스테르화 하지 않는 *Aspergillus niger* 리파제 (Asp.)와 *Rhizopus delemar* 리파제 (Rh.)를 사용하면 트리글리세리드는 소량밖에 생성하지 않고, 위치특이성이 없는 *Geotrichum candidum* 리파제 (Geo.)와 *Penicillium cyclopium* 리파제 (Pen.)을 사용하면

트리글리세리드가 자연스럽게 합성되는 것이 밝혀졌다(그림 4).

한편, *Rhizopus nodosus* 유래의 산성 리파제는 글리세리드 합성과 관련된 용제, 유화제의 첨가효과, 기질(글리세리드와 올레산)의 양이 반응율에 미치는 영향이 연구되었다<sup>33)</sup>. 즉, 글리세린 4 ml, 올레산 0.1 g, 리파제 용액 0.1 ml, 물 1 ml로 조성된 반응액을 30°C에서 16시간 동안 일정하게 교반하면서 반응시킨 계에 있어서 1 ml의 물을 각각 치환하여 반응시킨 결과 (표 5), 용제는 아세톤:물=1:1계, 첨가제는 2% (w/v) 알부민 용액이 에스테르 합성에 좋은 결과를 보여주고 있다. 이것은 반응계에서 수분량과 기질상호간의 접촉방법의 효과가 큰 것으로 시사되고 있다.

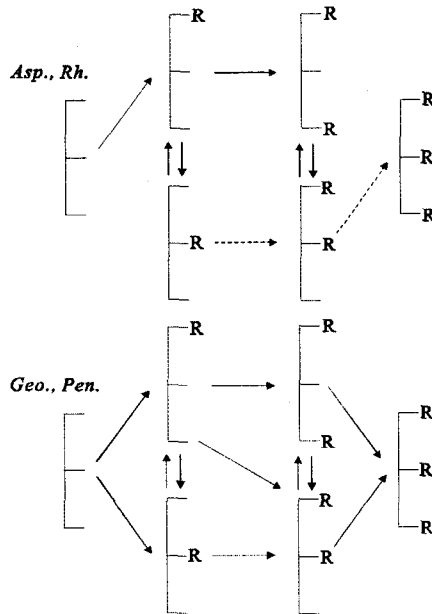


그림 4. *Aspergillus niger* (Asp.), *Rhizopus delemar* (Rh.), *Geotrichum candidum* (Geo.) and *Penicillium cyclopium* (Pen.) 유래의 리파제에 의한 글리세리드의 합성경로.

표 5. *R. nodosus* 유래의 리파제에 의한 글리세리드의 합성에 미치는 화합물의 영향

화합물	합성율 (%)
물	8.6
아세톤	7.9
디에틸에테르	1.5
헥산	3.0
헵탄	3.3
사이클로헥산	3.7
이소프로필에테르	2.4
아세톤:물 (1:1, v/v)	24.3
아세톤:물 (2:1, v/v)	14.8
폴리비닐알콜 (2%)	5.7
폴리비닐알콜 (5%)	8.0
아라비아 고무 (2%)	7.1
아라비아 고무 (5%)	10.0
0.1M 시트르산염-인산염 완충액 (pH 5.0)	14.3
0.1M 시트르산염-인산염 완충액 (pH 5.8)	17.8
알부민 (2%)	20.2

지질의 가수분해, 즉 에스테르 결합의 분해방법으로서 연속적 막효소반응기의 이용과 마찬가지로 리파제에 의한 에스테르 합성반응도 이와 같은 막효소반응기를 사용하여 목적물질을 연속적으로 생산이 가능할 뿐만 아니라 효소는 장기간 반복적으로 사용할 수 있다<sup>34</sup>. 막효소반응기(그림 5)에서 글리

세린과 올레산의 에스테르화율은 약 80%에 이르고 있다. 막효소반응기는 리파제-글리세린 용액과 올레산을 작은 구멍을 통과시켜 반응시키는 방식으로 리파제-글리세린 용액의 적절한 탈수와 리파제의 안정화제(CaCl<sub>2</sub>)의 첨가에 의해 30일 동안 연속적으로 에스테르 합성이 가능한 장치이다.

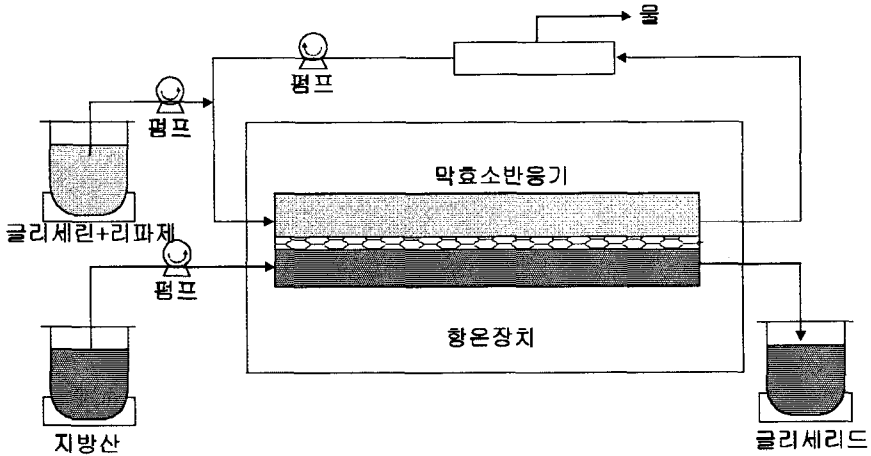


그림 5. 리파제로 지질의 에스테르 합성반응을 위한 막호소반응기.

### 3.3. 에스테르 결합의 교환

리파제에 의한 지질의 에스테르결합의 교환은 지방산의 교환과 알콜의 교환으로 나눌 수 있으며, 리파제의 특이성을 이용한 에스테르 교환반응은 화학축매로 할 수 없는 매우 유용한 기술이다.

지방산의 교환은 지질이 여러 종류의 지방산의 조합에 의해 글리세리드가 구성되므로 각각의 물성을 이용하여 식품을 중심으로 의약, 화장품 등의 원료로 이용되고 있으며, 현재 물성개량 기술의 하나로써 화학축매에 의한 에스테르 교환반응이 이루어지고 있다. 그러나 화학축매에 의한 에스테르 결합의 교환은 다른 부산물의 생성, 잔여 화학물질로 인한 안전성 문제 및 비특이적인 교환반응으로 인한 목적 물질의 생산에 어려움이 따르지만, 특이성을 가진 리파제에 의한 에스테르 교환은 생체효소를 이용함으로써 안전성이 확보될 뿐만 아니라 목적으로 하는 에스테르결합의 교환이 가능하다는 점에서 매우 효과적

이다.

Macrae<sup>35)</sup>에 의하면 지질의 에스테르 교환에 의한 품질개량 기술은 트리글리세리드 혼합물을 사용하는 경우와 트리글리세리드와 유리지방산의 혼합물을 사용하는 경우로 구분할 수 있는데, 화학축매 또는 특이성이 없는 리파제를 사용한 경우는 지방산이 조합될 수 있는 모든 트리글리세리드가 생성될 수 있지만, 1,3-위치특이성과 지방산특이성이 있는 리파제를 사용하는 경우는 특징적인 트리글리세리드만이 생성된다고 하였다.

田中 등<sup>36)</sup>은 핵산 중에서의 에스테르 교환반응에서 수분량, 리파제의 위치특이성, 지방산 특이성을 이용하여 올리브유를 다양한 지질로의 품질개량에 관하여 연구하였으며, 마가린으로 사용할 목적으로 대두유와 우지의 혼합물을 에스테르 교환반응과 에스테르 교환반응 공정개발에 관한 연구도 이루어지고 있다<sup>37)</sup>.

알콜의 교환은 지방산의 메틸에스테르 또는 에틸에스테르와 글리세린 사이에서 알콜 교환이 이루어지며, 생성물의 정제가 용이하다는 장점이 있다. 올레산으로 부분 글리세리드를 합성하는 경우, 올레산 또는 올레산메틸/글리세린의 몰비 1/5, 글리세린 중의 수분함량을 0.6, 7.0, 15%로 변화시켜 반응시키면 지방산과 글리세린의 탈수에 의한 에스테르반응, 지방산에스테르와 글리세린의 알콜 교환반응으로 트리글리세리드 10~20%, 디글리세리드 40~50%, 모노글리세리드 20~40%가 얻어져 알콜교환에 의한 에스테르 합성의 가능성을 나타내었다.

#### 4. 리파제에 의한 어유의 기능성 개선

신체조직이 정상적인 기능을 하는데 필요한 필수지방산은 체내에서 합성할 수 있는 것과 합성할 수 없는 것이 있으며, 후자는 음식에서 섭취할 필요가 있다. 필수지방산은 영양생리학적으로  $\omega$ -3계,  $\omega$ -6계로 나누어지며, 체내의 대사과정에서 서로 호환성은 없다. 따라서  $\omega$ -3계 및  $\omega$ -6계의 지방을 음식으로부터 섭취할 필요가 있지만 이들은 체내에서 경쟁적으로 대사되기 때문에  $\omega$ -3계와  $\omega$ -6계의 지방산을 균형 있게 섭취해야 한다.

최근 식생활이 서구화 및 인스턴트화 되어감에 따라 청소년을 중심으로  $\omega$ -3계 지방산의 섭취비율이 감소되고 있으며, 더욱이  $\omega$ -3계의 대사과정에 작용하는 효소는 유아와 노인 및 당뇨병, 고지혈증, 암 등의 성인병 환자뿐만 아

니라 과일 알콜 섭취 및 비타민 B<sub>6</sub>가 부족한 상태에 있는 사람들은 저해를 받기 쉬운 것으로 알려져 있다. 이러한 저해인자를 가진 사람 또는 선천적으로 대사효소가 결손된 사람은 에코사노이드 (ecosanoid)전구체인 다중불포화지방산이 부족하게 된다. 특히 DHA는 인체 내에서 합성될 수 없기 때문에 필요한 DHA를 음식으로부터 섭취하여야 한다. DHA의 필요 섭취량은 일반적으로 DHA를 함유한  $\omega$ -3계가 전체 지질 섭취량의 3%로 권장하고 있다<sup>38)</sup>.

DHA를 함유한  $\omega$ -3 다중불포화지방산을 섭취하기에는 생선을 먹는 것이 가장 용이하지만, 현실적으로 권장 섭취량으로 계산하면 하루에 1~3그램의  $\omega$ -3 다중불포화지방산을 섭취한다는 것은 어중에 따라 매우 많은 양의 생선을 먹어야 한다는 것을 뜻한다. 그러나 많은 양의 생선을 먹는다는 것은 경비, 요리의 어려움, 콜레스테롤 문제 등이 있기 때문에 생선으로부터  $\omega$ -3 다중불포화지방산을 추출하거나 지질의 효소적 품질개량에 의한  $\omega$ -3 다중불포화 지방산의 함량을 향상시키는 방법 등이 필요하다<sup>39),40)</sup>.

여러 가지 생리활성이 밝혀져 있는  $\omega$ -3 다중불포화지방산을 기능성 식품 또는 의약품으로 이용하기 위해서 어유는 모노글리세리드, 디글리세리드 및 유리 지방산 등으로 전환시킬 필요가 있는데, 이것은 지방섭취에 비해 소화 및 흡수속도를 높일 수 있다. 인체에서  $\omega$ -3 다중불포화지방산의 흡수에 관한 연구결과, 유리 지방산이 가장 흡수가 좋고, 그 다음이 트리글리세리드였으며, 에틸에스테르 (ethylester)가 가장 낮은

것으로 밝혀졌다<sup>41)</sup>. 그러나 유리지방산은 안정성 없어 이용하기에 부적합하고, 에틸에스테르는 의약품으로는 이용할 수 있지만 식품으로는 고려되지 않고 있다. 또한 모노글리세리드와 디글리세리드는 식품으로 이용할 수 있지만 식용유로 이용되고 있는 트리글리세리드를 대체할 정도는 되지 않는다.

트리글리세리드 중의  $\omega$ -3 다중불포화지방산 함량을 높이기 위한 방법은 여분의 지질량을 감소시켜  $\omega$ -3 다중불포화지방산의 함량을 높여 생리활성을 갖는 트리글리세리드를 얻는 것이다. 그러나 현재 제품화되어 있는  $\omega$ -3 다중불포화지방산이 다량 함유된 트리글리세리드는 저온 용제분별법으로 얻어지지만 40% 이상으로 농축하는데 어려움이 있다. 이것은 트리글리세리드 분자가 복잡한 조성으로 이루어져 있기 때문에 이러한 방법으로 농축하려면 어유의 트리글리세리드 분자를 한번 더 분해시켜야 할 필요가 있다. 또한 수산화나트륨에 의한 겔화와 같은 화학적인 방법은 다중불포화지방산의 산화, 중합도 등을 일으키기 쉽기 때문에 어유의 품질개량에 온화한 조건에서 반응시킬 수 있는 효소적 방법이 가장 효과적인 방법이다.

리파제는 앞서 언급한 바와 같이 글리세리드에 작용하는 위치와 함께 구성 지방산에 대한 특이성을 가지고 있다. 일반적으로 리파제는 다중불포화지방산에 작용하는데 어려움이 있는데 이것은 DHA가 카르복실기 부근에 이중결합을 가지고 있어 분자형태상의 입체장해에 의한 것으로 보고되어 있다<sup>42)</sup>. 리파제의 기질특이성의 연구에서 *Candida rugosa*

유래의 리파제는 지질을 가수분해시킴으로써 미분해 글리세리드 회분에 2배 이상의 다중불포화지방산을 농축시키는 것으로 확인되었다. 따라서  $\omega$ -3 다중불포화지방산을 함유한 어유 지방산을 얻는 것도 중요할 뿐만 아니라 DHA에 잘 작용하는 효소의 선택도 필요하다.

정어리유는 효소적 가수분해에 의해 65%이상의 가수분해율을 얻을 수 있는데 이것은 화학적 분해법과 같은 정도의 비율로 EPA, DHA가 함유된 지방산을 얻을 수 있다는 것이 확인되어 연속적인 가수분해에 대한 연구가 진행되고 있다.

어유의 연속적 가수분해에 사용되고 있는 생물반응기는 분해반응과 물-어유 분리를 조합시킨 향류식 유동상형 연속장치로 교반에 의한 고정화효소의 물리적 파괴를 피할 수 있고 물과 어유를 분리시킬 수 있다. 이 장치는 80시간 이상 사용하여도 분해율 80%이상 유지되었으며, 효소의 활성도 저하되지 않았다. 어유의 가수분해 반응은 반응기내에 불활성 가스를 넣어 과산화물의 생성을 억제하여 양질의 어유 지방산을 얻을 수 있다. 이 지방산은 저온용매분별법, 염형성법, 요오드부가법에 의해 70%정도의 고농도 다중불포화지방산을 얻을 수 있다. 또한 초임계이산화탄소 추출법, 은이온흡착칼럼법에 의해서도 고순도의 다중불포화지방산을 얻을 수 있다.

리파제에 의한  $\omega$ -3 다중불포화지방산의 함유량이 높은 트리글리세리드는 그림 6에서와 같은 방법으로 얻을 수 있다. 각각 반응의 용이성과 사용된 어종은 다르지만 다중불포화지방산의 농

축은 2~3배 정도이며,  $\omega$ -3 다중불포화지방산의 함유량은 최고 60%정도이다. 고농도화를 위한 에스테르 합성에 필요한 효소의 조건은 내열성을 가지며, 장시간 사용 가능한 고정화 효소, 안정화제 및 활성화제를 첨가하지 않고 50 ppm이하의 초미수계에서 활성이 가능하며, 다중불포화지방산에 잘 작용해야 한다.

- 1) 어유 + 유리 지방산 → 리파제에 의한 분해반응 → 다중불포화지방산이 많은 트리글리세리드 + 유리 지방산
- 2) 어유 + 유리 다중불포화지방산 → 리파제에 의한 에스테르 교환반응 → 다중 불포화지방산이 많은 트리글리세리드 + 에틸에스테르
- 3) 어유 + 물 → 리파제에 의한 가수 분해 → 부분 글리세리드 + 유리 지방산  
부분 글리세리드 + 유리 다중불포화지방산 → 리파제에 의한 에스테르 합성반응 → 다중불포화지방산이 많은 어유 + 유리 지방산
- 4) 유리 다중불포화지방산 + 글리세린 → 리파제에 의한 에스테르 합성반응 → 다중불포화지방산이 많은 트리글리세리드 + 디글리세리드 + 모노 글리세리드 + 유리 지방산

그림 6. 리파제에 의한 어유의 다중불포화지방산의 함유량을 높이기 위한 반응과정.

Lipozyme IM60 (*M. miehei*) 및 SP382 (*Candida antarctica*)의 2종류의 효소를

선택하여 지방산, 글리세린, 고정화효소(10%)로 구성된 반응계에서 진공탈수를 행하면서 60°C에서 트리글리세리드를 합성하여 기질특이성을 검토한 결과, *M. miehei* 유래의 고정화효소는 특이적으로 DHA에 작용하는 것이 어려웠으나 *C. antarctica* 유래의 고정화효소는 유효하게 작용하는 것으로 밝혀졌다<sup>43)</sup>. *Candida rugosa* 유래의 리파제는 정어리유와 대구간유<sup>44)</sup> 및 참치유<sup>45)</sup>의 EPA와 DHA함량을 27~40% 향상시킬 수 있었다(표 6).

기질로 다중불포화지방산을 사용한 트리글리세리드 합성은 반응중에 지방산의 일부가 중합하여 디글리세리드가 합성되므로 화학양론적인 양의 글리세린을 첨가한 반응계의 경우, 지방산의 부족으로 트리글리세리드의 수율이 저하하는 것으로 알려져 있다. 이러한 경향은 반응온도 40°C에서 행하여도 마찬가지이기 때문에 글리세린과 지방산의 혼합비를 변화시켜 디글리세리드의 생성을 억제할 수 있다. 반응후의 조성은 글리세린의 첨가량을 5~10%로 적게 하였을 때 중합도가 증가하지 않고 디글리세리드의 생성량도 감소하여 트리글리세리드의 수율을 향상시킬 수 있다. 합성된 트리글리세리드는 염기성 알루미늄으로 불순물을 흡착하여 제거한 후, HPLC에서 겔여과크로마토그래피 칼럼으로 트리글리세리드를 분석하고, 모세관 기체크로마토그래피에 의해 구성지방산이 DHA인 것을 확인할 수 있다.

표 6. 리파제에 의한 어유의 가수분해 반응으로 EPA 및 DHA의 농축

어 유	리파제의 유래	반응전, wt%		반응후, wt%	
		EPA	DHA	EPA	DHA
참치	<i>C. rugosa</i>	8	30	7	58
참치	<i>G. Candidum</i>	8	30	11	47
대구간	<i>A. niger</i>	9	20	12	38
정어리	<i>C. rugosa</i>	15	10	10	37

온화한 조건에서 반응을 시킬 수 있는 효소반응은 다중불포화지방산을 다량 함유하는 어유의 품질개량에 유용하며, 초미수계에서 활성유지가 가능하고 다중불포화지방산에 잘 작용하는 효소를 이용함으로써 에스테르 합성반응이 용이하여 다중불포화지방산-트리글리세리드를 합성하는 것이 가능하다. 공업적인 측면에서 보면 이 방법은 유기용매가 불필요하고 효소의 재이용이 가능할 뿐만 아니라 반응후의 정제가 용이하다는 이점이 있다. 또한 종래 기술로는 얻을 수 없었던 순수한 다중불포화지방산-트리글리세리드의 합성이 가능하기 때문에 그 이용방법은 식품으로서 뿐만 아니라 의약품으로서의 이용도가 가능하다.

다중불포화지방산을 제품화하기 위해서는 산화방지가 가장 중요하여 인지질과 비타민 E의 상승효과에 의한 산화방지법과 마이크로캡슐화에 의한 산소의 차단기술이 개발되어 있다<sup>46)</sup>. 또한 다중불포화지방산을 물에 분산시킨 경우는 산화속도가 매우 느려지는 것으로 알려져 있으며, 식품으로의 첨가형태에 따라서 소비확대가 가능할 것으로 기대된다.

## 5. 기능성 지질의 종류와 기능

지질은 에너지원, 필수지방산의 공급원, 지용성 비타민의 담체 등으로 작용하며, 이외에도 식품의 조리 및 풍미와도 관계가 있는 중요한 기능을 가지고 있다. 이러한 기본적인 기능 이외에도 지질, 특히 지방산은 인체내에서 대사 조절 작용에도 관여하고 있으며, 포화지방산, 불포화지방산 및 특수지방산으로 구분할 수 있다.

### 5.1. 포화지방산

포화지방산은 물리적, 화학적 생리적인 특성에서 불포화지방산과 대조적인 성질을 가지고 있으며, 상호 보완적인 관계에 있다. 최근 생리기능적인 측면에서 주목받고 있는 각종 불포화지방산은 포화지방산을 기질로 하여 생합성에 의해 얻을 수 있는 유도체이며, 그 기능성을 연구하기 위해서는 기질인 포화지방산의 성질을 이해할 필요가 있다.

지방산은 생물의 저장지질과 기능지질의 골격성분으로서 자연계에 널리 분포되어 있다. 천연지방산의 제조원료로 사용되고 있는 것은 저장성질로서 존재하는 동·식물유지이며, 탄소수가 짝수로 된 선형사슬형의 1가 염기산이다.



탄소수가 짝수로 되어 있는 것은 C<sub>2</sub>단위로 축합에 의한 합성과 β 산화에 의한 분해를 받을 수 있다<sup>47)</sup>. 생합성 반응은 기질이 효소와 결합한 상태로 반응을 받아 생성물로 탄소가 증가하게 되면 효소로부터 해리되어 반응이 정지된다. 이 효소계에서 생성된 지방산은 주로 팔미트산 (C<sub>16</sub>)이다. 따라서 동식물계에서 가장 널리 다량으로 함유되어 있는 포화지방산은 팔미트산이며, 다음으로 스테아르산 (C<sub>18</sub>)이 있다. C<sub>18</sub>이상의 긴사슬 지방산에서는 불포화반응이 촉진되기 때문에 C<sub>20</sub>이상의 포화지방산의 존재율은 적다. 공업적으로 중요한 라우르산 (C<sub>12</sub>)는 편재지방산으로 야자유와 팜유의 주성분이다. 중간사슬 포화지방산 (C<sub>6-10</sub>)은 천연유지 중에는 소량밖에 함유되어 있지 않지만 생체내에서 특수한 생리작용을 나타낸다.

주요 선형사슬 지방산의 종류는 표 7에 나타내었다. 결가지사슬 지방산도 식물유지에는 거의 함유되어 있지 않지만 동물유지에 분포하여 있으며, 메틸기 결가지가 가장 일반적이다. 결가지사슬 지방산은 인간의 피지, 모발지에 함유되어 있어 피부생리학적인 관점에서 주목을 받고 있다.

포화지방산의 주요 물성 중에서 융점과 비점은 지방산의 제조, 이용 및 동정에 가장 중요한 인자이다. 포화지방산의 융점은 탄소수의 증가에 따라 높아지는 경향이 있지만 홀수탄소수의 포화지방산은 탄소수가 1개 적은 짝수탄소의 포화지방산보다 낮다. 이러한 원인은 말단 메틸기의 배향에 따라 결정 밀도에 차이가 생기기 때문이다. 결가지사슬이 있는 지방산의 융점은 결가지

사슬이 탄소사슬 중심에 있을 때 가장 낮고, 말단에 있을 때는 융점에 큰 영향을 미치지 않기 때문에 선형사슬 지방산에 가까운 융점이 된다.

표 7. 선형사슬 포화지방산의 분류 및 특성

지방산	분자식	분자량 (Da)	녹는점 (°C)
부티르산	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> COOH	88.1	-7.9
카프로산	C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> COOH	116.15	-3.4
카프릴산	C <sub>7</sub> H <sub>15</sub> COOH	144.21	16.7
카프르산	C <sub>9</sub> H <sub>19</sub> COOH	172.26	31.6
라우르산	C <sub>11</sub> H <sub>23</sub> COOH	200.31	44.2
미리스트산	C <sub>13</sub> H <sub>27</sub> COOH	228.36	54.4
팔미트산	C <sub>15</sub> H <sub>31</sub> COOH	256.42	62.9
스테아르산	C <sub>17</sub> H <sub>35</sub> COOH	284.47	69.6
아라키돈산	C <sub>19</sub> H <sub>39</sub> COOH	312.52	75.4
베헨산	C <sub>21</sub> H <sub>43</sub> COOH	340.57	80.0
리그노세르산	C <sub>23</sub> H <sub>47</sub> COOH	368.62	84.2

지방산의 비점은 분자량이 증가함에 따라 상승하며, 분자량이 작은 지방산은 상온에서 증류할 수 있지만 천연유지에 함유된 고급 지방산은 감압하에서 증류시킨다. 지방산은 카르복시기에 의해 분자간에 수소결합하여 이량체로 되기 때문에 지방산의 분자량에 기여한 지방족탄화수소가 증가함에 따라 높은 비점을 가지며, 메틸에스테르화에 따라 수소결합을 절단하면 비점은 매우 낮아진다. 고급 불포화지방산의 비점은 포화지방산의 비점에 비해 3~5°C 정도 낮다.

포화지방산은 천연유지를 원료로 하는 제조법과 석유화학을 원료로 하는 합성법에 의해 얻어질 수 있다. 천연유지를 원료로 하는 지방산의 제조는 일

반적으로 유지→분해→증류→지방산의 과정으로 생산된다. 현재 공업적으로 제조되고 있는 포화지방산의 주요 원료로는 야자유 (C<sub>6</sub>, C<sub>8</sub>, C<sub>10</sub>, C<sub>12</sub>, C<sub>14</sub>), 우지 및 돈지 (C<sub>16</sub>, C<sub>18</sub>), 어유 (C<sub>20</sub>, C<sub>22</sub>) 등이 있으며, 공업적인 순도는 C<sub>6</sub> 95%, C<sub>8</sub>~C<sub>14</sub> 99%, C<sub>16</sub>~C<sub>18</sub> 98%, C<sub>20</sub>, 95% 및 C<sub>22</sub> 90%정도이다. 현재 팔미트산과 스테아르산은 경제성이 있어 동물유지를 원료로 제조되었지만 동물유지는 원래 대사성 물질이기 때문에 안정성이 나쁘고, 분리하기 어려운 지방산과 단백질, 인지질 등의 불순물이 함유되어 있기 때문에 99%이상의 고순도, 고품질의 제품을 얻기는 어렵기 때문에 새로운 제조기술 개발이 필요한 실정이다.

## 5.2. 불포화지방산

불포화지방산 중에서 탄화수소 사슬에 이중결합을 하나 가지고 있는 모노불포화지방산의 종류는 자연계에 매우 많은 것이 존재하고 있는 것으로 밝혀져 있다. 주요 모노불포화지방산은 탄소수가 18개로 분자중양에 cis형의 이중결합을 가진 올레산 [CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>CH=CH(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>COOH]이 있고, 동·식물유지 중에 폭넓게 다량으로 존재하고 있다.

공업용 원료로 대량 사용되고 있는 올레산은 일반적으로 우지를 원료로 제조되고 있고, 제품으로 나오는 올레산의 순도는 50~60%로 30종류 이상의 지방산으로 이루어진 혼합물이다. 공업용 올레산은 우지 (올레산 36%)→고온고압에서 가수분해 (250℃, 50atm)→분별 (5~30℃)→연속증류 (230℃)→공업용 올레산 (올레산 57%) 공정을 거쳐 얻어진다. 올레산의 분별법은 고체지방

산과 액체지방산을 분리하는데 유용한 방법으로 Henkel법<sup>48)</sup>이 가장 일반적이다.

최근 고순도의 올레산은 공업적 순도에서는 볼 수 없었던 새로운 기능성을 가지고 있어 의약, 화장품 등의 분야에서 응용이 기대되고 있다. 따라서 리파제를 사용한 새로운 분리정제 공정은 원료유지→효소가수분해→고도분리정제→분자증류→고순도 올레산 (순도 99% 이상)의 생산이 가능하게 되었다. 이 고순도 올레산의 제조법의 장점은 각 공정에서 온화한 조건에서 반응시킴으로서 고온에 의한 품질변화가 없으며, 약제에 의한 흡착분리공정과 안전성 문제의 해결로 고품질의 올레산을 제조하는데 경제성이 있다.

올레산은 인간이 생체내에서 만들어질 수 있는 가장 대표적인 불포화지방산이다. 그러나 ω-6계열의 리놀레산과 ω-3계열의 α-리놀렌산, 아라키돈산 등의 불포화지방산은 인체내에서 생합성할 수 없는 필수지방산으로 알려져 있다. 각각의 불포화지방산에 대한 분자수준의 생리작용이 밝혀지면서 올레산의 기능에 관한 연구가 주목되고 있다.

올레산은 혈청콜레스테롤 농도에 대해 중성으로 알려져 있지만 최근의 임상영양학적 연구결과에서 리놀레산은 저밀도 지방단백질 (low density lipoprotein) 과 고밀도 지방단백질 (high density lipoprotein)의 모든 콜레스테롤을 낮추는데 비해 올레산은 저밀도 지방단백질-콜레스테롤 (cholesterol)의 저하능이 리놀레산과 거의 같지만 고밀도 지방단백질-콜레스테롤의 저하는 볼 수 없었으며, 혈액 중의 당 농도의 감소와 콜라겐에 대한 혈소판응집의 감소를 나타

내는 등 생리작용을 가지고 있는 것으로 판명되었다<sup>49)</sup>.

올레산을 중심으로 하는 불포화지방산의 약리 효과에 관한 연구로 沼田 등<sup>50)</sup>은 올레산의 불포화지방산이 각종 암에 대한 항암 활성을 측정하고, 폐암에 대해 항암효과가 있음을 입증하였으며, 早津 등<sup>51)</sup>은 올레산과 리놀레산이 강한 변이원성억제 작용이 있는 것을 확인하여 포화지방산에서 볼 수 없는 불포화지방산이 갖는 특이한 작용이 있음을 알 수 있다. 또한 올레산은 혼합미셀계에서 항생물질, 항암제, 펩타이드계 의약 등의 난흡수성 약물을 소화관에서 현저하게 흡수촉진<sup>52)</sup>시키는 작용뿐만 아니라 경피흡수촉진 작용<sup>53)</sup> 및 모발발육촉진 작용<sup>54)</sup>이 보고되어 있다. 또한 팔미톨레산 (16:1  $\omega$ -7)은 본태성 고혈압 쥐의 혈압상승을 억제하는 것으로 알려져 있다.

불포화지방산 중에서 탄화수소 사슬에 이중결합이 두 개 이상 가지고 있는 다중불포화지방산은 리놀레산 (18:2  $\omega$ -6) 및  $\alpha$ -리놀렌산 (18:3  $\omega$ -3) 등이 있으며, 이들은 동물의 체내에서 합성할 수 없기 때문에 음식으로 섭취할 필요가 있는 필수지방산이다. 또한  $\gamma$ -리놀레산은 리놀레산으로부터 체내에서 전환된 대사형의 필수지방산의 하나이다.

이들 지방산을 개시분자로 하는  $\omega$ -6계 및  $\omega$ -3계의 다중불포화지방산은 필수지방산으로서의 기능이 있으며, 생체인지질의 구성요소로서 막기능의 유지에 필수적이지만 인체내에서의 대사경로는 차이가 있다. 리놀레산의 주요 공급원은 식물성 유지이며, 아라키돈산은 동물성 식품에서, EPA와 DHA는 등푸

른 생선에서, 리놀렌산은 콩기름, 들깨기름으로부터 섭취되어진다. 생체내에서  $\omega$ -6계 및  $\omega$ -3계 지방산의 가장 중요한 역할은 세포막이나 세포내의 핵막이나 미토콘드리아 막조직인 인지질의 필수성분이 되어 세포 내외간의 운반, 효소의 활성, 호르몬, 단백질 수용체, 신경조직에서 신호전달 등에 관여하고 있다.

### 5.3. 특수지방산

지질이 체내 에너지원으로서 섭취하던 시대로부터 벗어나 최근에는 체내에서 생리기능을 갖는 지방산, 특히  $\omega$ -6계 및  $\omega$ -3계 불포화지방산의 기능이 알려지면서 지질의 중요성이 부각되었다.

EPA는 불포화 이중결합수가 5개이며, 처음의 이중결합이 메틸기의 말단에서 3번째에 있는  $\omega$ -3계열의 다중불포화지방산이다. 다중불포화지방산의 소재인 지방산은  $\omega$ -9계열의 올레산,  $\omega$ -6계열의 리놀레산,  $\omega$ -3계열의  $\alpha$ -리놀렌산이다. 다중불포화지방산은 체내에서 합성할 수 없기 때문에 음식물로부터 섭취하여야 한다. 여러 가지 식품 중에 함유되어 있는 지방산 조성의 주요 성분은 동물유지에 탄소수 18개 이하의 포화지방산과 단일불포화지방산, 식물유지에 단일 및 이가 불포화지방산, 수산물 유지에 탄소수 20개 이상, 불포화 이중결합수 4~6개의 다가 불포화지방산을 많이 함유되어 있는 것이 특징이다. 수산물 유지는 이중결합의 위치가  $\omega$ -3계열이 많고, 육상식물유지는  $\omega$ -6계열이 많은 것이 대조적이다.

식물유지는 이중결합과  $\omega$  위치의 탄소와의 사이에 새로운 이중결합을 넣어

낮은 수의  $\omega$ 계의 다가불포화지방산을 만들 수 있지만 동물유지에서는 이중결합과 카르복시메틸기 사이에 넣기 때문에 계열사이의 전환은 일어나지 않는다. 사람의 체내에서 세포막의 구성요소인  $\omega$ -6계열의 불포화지방산인 아라키돈산으로부터 유도되는 프로스타글란딘 (prostaglandin), 류코트라이인 (leukotriene) 등의 지방산은 매우 중요한 생체조절기능을 가지고 있다. 수산물 섭취에 의해 체내에 어느 정도 축적된  $\omega$ -3계인 EPA도  $\omega$ -6계인 아라키돈산과 함께 대사되어 프로스타글란딘, 류코트라이인 등이 생성되지만 이들 각각의 프로스타글란딘과 류코트라이인은 이중결합에 약간의 차이가 있어 생리활성이 서로 다르다<sup>55)</sup>. EPA의 생리작용은 혈소판응집억제, 혈청지질개선, 항염증작용 및 항동맥경화 등의 작용이 있어 이와 관련된 산업에 이용되고 있다.

DHA는  $\omega$ -3계의 탄소수 22개로 이중결합 6개를 가진 다중불포화지방산의 일종이다. DHA와 EPA는 일반적으로 동일한 어종의 어유 중에 10~16%와 5~10% 정도로 함유되어 있다. 현재까지도 EPA와 DHA에 관한 연구가 진행되고 있지만 분리정제기술이 완성된 상태가 아니기 때문에 경제성이 있는 분리정제기술의 개발이 필요하다.

DHA는 사람의 뇌회백질부, 망막, 신경, 심장, 정자, 모유중에 다량 함유되어 있는 것으로 밝혀져 인체내에서 중요한 작용을 하고 있음을 알 수 있다. DHA의 생리활성은 학습기능 향상작용, 항암작용, 혈중지질 저하작용, 망막반사능 향상작용, 혈압강하작용, 항혈전작용, 항알러지작용, 항염증작용 및 항

당뇨병작용이 있다.

## 6. 어유의 산업적 응용 및 전망

어유의 생리활성은 지방산 유래에 의한 것과 비지방산 성분에 유래하는 것이 있다. 지방산의 경우에는 다중불포화지방산의 기능에 의해 좌우되지만 이것을 식품소재로서 이용하기 위한 최대의 문제점은 산화되기가 쉽다는 사실이다. 천연에서 다중불포화지방산의 산화는 항산화제 만으로는 완전히 억제할 수 없어 물리적인 제어를 병행시킬 필요가 있다. 예를 들면 단백질과 당질에 의한 코팅 방법은 항산화제와 병행하여 사용하므로 비교적 안정하게 저장할 수 있다. 따라서 자연계로부터 안정하면서 효과적인 항산화제의 개발이 요구되고 있다.

지질이 가진 생리작용과 약리작용을 이용한 의약품 및 의약품 첨가물로의 응용은 최근 생명공학의 발달로 인하여 약물수송 시스템에 응용, 인지질의 의약품, 영양생리학적인 측면에서의 제품 개발이 기대되고 있다. 생체내에서 약물의 효능이 효과적으로 발휘되기 위해서는 필요한 부위에 약물을 투여할 필요가 있다. 약물수송 시스템에 이용될 수 있는 지방산은 긴사슬 불포화지방산인 모노올레산, 올레산, 리놀레산 등이 있으며, 계면활성제와 혼합하여 초음파 분산법에 의해 제조된다. 일반적으로 장관에서 흡수성이 적은 약물인 헤파린, 케토마이신 등은 계면활성제와 혼합미셀을 형성하여 지질성분의 막상피 세포로의 유입을 지질성분이 막투과성을 향상시킴으로써 혈중에서 이들 약물

의 함량을 높일 수 있다.

화장품에는 피부에 좋은 지용성 및 수용성 성분이 배합되어 있지만 다양한 종류의 생리활성을 갖는 지질도 세포의 항노화 및 항산화물질과 함께 함유되어 있다. 그러나 이들 지질은 산화가 일어나 화장품의 첨가제중에서 안정하게 배합되기 어렵고 배합되는 약제 또한 매우 제한되어 있다. 이와 같이 산화가 일어나는 지질을 안정화하기 위한 방법 으로서는 마이크로캡슐의 이용이 고려되고 있다. 젤라틴성형막은 마이크로캡슐의 제조에 이용되고 있으며, 지질의 안정화에 용이하게 사용되고 있다. 화장품의 첨가제로 사용되고 있는 지질로서  $\gamma$ -리놀레산, 비타민 A 및 팔미트산 등이 있으며, 이들 지질소재는 피부에 대한 항노화 및 항산화와 같은 생리기능성을 가지고 있다.

이와 같이 어유는 그 자체로서 에너지원, 필수지방산의 공급원, 지용성 비타민의 담체로서의 이용 및 식품의 조리와 풍미기능으로서의 기본적인 기능을 이용한 식품분야뿐만 아니라 기능성 개선을 통하여 유화제로서의 화장품 산업, 생리작용 및 약리작용을 응용한 의약품 및 의약품첨가물 산업분야에서 그 활용가치는 더욱 높아질 것이다.

## 맺 음 말

수산 생물자원은 인간의 3대 영양소인 단백질, 탄수화물 및 지방의 공급원으로서 이용되어 왔으며, 육상 생물자원과는 다른 영양학적 및 생리기능적인 특성이 고려되어 왔다. 특히, 어유는 육상 동·식물유에 비해 EPA 및 DHA와

같은 다중불포화지방산의 함량이 많아 건강지향적 식생활의 경향이 높은 현대인들에게 기능성 건강식품으로서 활용할 수 있다. 그러나 어유는 높은 생리활성을 가진 해양생물 자원이지만 열과 산소에 불안정하기 때문에 수산가공공장에서 발생하는 대부분의 부산물들이 유용하게 이용되지 못하고 있는 실정이다. 이와 같이 폐기되고 있는 저급어유는 지질과 관련된 생체촉매인 리파제의 위치특이성 및 지방산 특이성을 이용하여 에스테르 가수분해반응, 결합반응 및 교환반응을 통하여 DHA 및 EPA와 같은 다중불포화지방산의 함량을 향상시킬 수 있다.

최근, 고분자 기술의 발달로 인한 다양한 기능성 막과 반응기를 조합시킨 막효소반응기는 어유의 기능성을 개선시키기 위한 매우 효율적인 방법으로 낮은 에너지, 고품질로의 향상, 자원의 유효이용과 농축, 유수의 분리, 유지 및 관련제품의 정제, 유지의 가수분해 등에 응용될 수 있으며, 산업생산에서 기반기술로서 그 중요성이 부각되고 있다. 이러한 기술에 의해 기능성이 개선된 어유 관련 소재는 그 자체가 갖는 에너지원 및 필수지방산의 공급원으로서의 기본적인 기능 외에 도료, 고분자수지, 윤활유 및 플라스틱 소재와 같은 공업분야에서 뿐만 아니라, 어유의 경화유에 의한 세제 및 비누 등의 화장품 분야, 건강기능성 식품분야, 의약품 및 의약품첨가물 분야에 공급되어 인간의 건강한 삶에 대한 욕구를 충족시켜 줄 것으로 기대된다.

## 참고문헌

- 1) Clark, W.F., Parbtani, A., Philbrick, D.J., Spanner, E., Huff, M.W. and Holub, B.J. *Clin. Nephrol.* 39: 295 (1993)
- 2) Shohat, J. and Boner, G. *Israel J. Med. Sci.* 29: 228 (1993)
- 3) Rose, D.P., Connolly, J.M., Rayburn, J. and Coleman, M. *J. Natl. Cancer Inst.* 87: 587 (1995)
- 4) Hubbard, N.E., Lim, D. and Erickson, K.L. *Cancer Letters* 124: 1 (1998)
- 5) 김세권. 미래가 보이는 해양의학과 과학. 양서각 p.343 (2000)
- 6) Mukherjee, K.D. *Biocatalysis.* 3: 277 (1990)
- 7) Gandhi, N.N. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 74: 621 (1997)
- 8) Frenandez, C.C. Refinement of fish oil for human consumption: Engineering investigations. University of Washington. UMI Dissertation. p.342 (1986)
- 9) FAO. Yearbook of Fishery Statistics. (1999)
- 10) 해양수산부, 세계수산물 생산동향(2000)
- 11) Savary, P. and Desnuelle, P. *Biochim. Biophys. Acta.* 21: 349 (1956)
- 12) Mattson, F.H. and Beck, L.W. *J. Biol. Chem.* 214: 115 (1955)
- 13) Berner, D.L. and Hammond, E.G. *Lipids.* 5: 558 (1970)
- 14) Alford, J.A., Pierce, D.A. and Suggs, F.G. *J. Lipid Res.* 5: 390 (1964)
- 15) Okumura, S., Iwai, M. and Tsujisaka, Y. *Agric. Biol. Chem.* 40: 655 (1981)
- 16) Noma, A. and Borgstrom, B. *Biochim. Biophys. Acta* 227: 106 (1971)
- 17) Aizono, Y., Funatsu, M., Sugano, M., Hayashi, K. and Fujiki, Y. *Agric. Biol. Chem.* 37: 2031 (1973)
- 18) Mattson, F.H. and Volpenhain, R.A. *J. Lipid Res.* 10: 271 (1969)
- 19) Mani, V.V.S. and Lakshminarayana, G. *Biochim. Biophys. Acta* 202: 547 (1970)
- 20) 岩井美枝子, 辻阪好夫, 奥村 普, 葛本弘義. 油化學 29: 65 (1980)
- 21) 名糖産業(株), 리パーゼによる油脂分解, p.25 (1967)
- 22) De Cordt, S., Hendrikx, M., Maemans, G. and Tobback, P. *Biotechnol. Bioeng.* 43: 107 (1994)
- 23) Arakawa, T. and Timasheff, S.N. *Biochemistry* 21: 6536 (1982)
- 24) Tuter, M. and Aksoy, H.A. *Biotechnology Letters* 22: 31 (2000)
- 25) Plou, F.J., Barandiaran, M., Calvo, M.V., Ballesteros, A. and Pastor, E. *Enzyme Microbial Technology* 18: 66 (1996)
- 26) Okazaki, S.Y., Kamiya, N., Abe, K., Goto, M. and Nakashio, F. *Biotechnology Bioengineering* 55: 455 (1997)
- 27) Liu, Y.Y., Xu, J.H. and Hu, Y. J. *Molecular Catalysis B: Enzymatic* 10: 523 (2000)

- 28) Kimura, Y., Tanaka, A., Sonomoto, K., Nihira, T. and Fukui, S. *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 17: 107 (1983)
- 29) Yamane, T. *J. Jpn. Oil Chem. Soc.* 36: 402 (1987)
- 30) 赤池祥光, 本多 進, 石田祀朗, 船田正, 日本公開特許 昭 57-57799.
- 31) 山口雄三, 小松 昭, 諸江辰男. *農化學會誌* 51: 123 (1977)
- 32) Okumura, S., Iwai, M. and Tsujisaka, Y. *Biochim. Biophys. Acta* 575: 156 (1979)
- 33) Tanaka, T., Ono, E., Ishihara, M., Yamanaka, S. and Takinami, K. *Agric. Biol. Chem.* 45: 387 (1981)
- 34) Yan, Y., Bornscheuer, U.T., Stadler, G., Lutz-Wahl, S., Reuss, M. and Schmid, R.D. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 78: 147 (2001)
- 35) Macrae, A.R. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 60: 243A (1983)
- 36) 田中 崇, 石原 勝, 小野榮治. *醱酵と工業* 41: 375 (1983)
- 37) Lo, Y.C. and Handel, A.P. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 60: 815 (1983)
- 38) Yazawa K. et al. *J. Jpn. Oil Chem. Soc. (Yukagaku)* 40: 975 (1991)
- 39) Shimada, Y., Maruyama, K., Nakamura, M., Nakayama, S., Sugihara, A. and Tominaga, Y. *Agric. Biol. Chem.* 72: 1577 (1995)
- 40) Wanasundara, U.N. and Shahidi, F. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 75: 1767 (1998)
- 41) Lawson, L.D. et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 152: 328 (1988)
- 42) Miller, C. et al. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 65: 927 (1988)
- 43) 小杉佳次, 東 直輝, 第30回油化学討論會・油化学研究發表會 講演要旨集 60 (1991).
- 44) Hoshino, T., Yamane, T. and Shimizu, S. *Agric. Biol. Chem.* 54: 1459 (1990)
- 45) Tanaka, Y., Hirano, J. and Funada, T. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 69: 1210 (1992)
- 46) 原 節子, 第30回油化学討論會・油化学研究發表會 講演要旨集 31 (1991)
- 47) コーン・スタンプ、生化学, 東京化学同人, p.338, 349 (1978)
- 48) Stein, W. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 45: 471 (1968)
- 49) Sirtori, C.R. et al. *Am. J. Clin. Nutr.* 44: 635 (1986)
- 50) 沼田光弘他. *化学と工業*. 39: 763 (1986)
- 51) 早津彦哉. *環境變異原研究* 3: 45 (1981)
- 52) Muranushi, N. et al. *Int. J. Pharm.* 4: 271 (1980)
- 53) Michael, L. and Francoeur et al. *Pharm. Res.* 7: 621 (1990)
- 54) 西村桂一. *日本化粧品科学會誌* 13: 134 (1989)
- 55) 藤田孝夫. *水産食品と栄養*, 恒星社厚生閣, p.54 (1982)