

해양한국발전프로그램(KSGP)연구개발사업
연구 보고서

환경 친화적 비열처리 공정에 의한 해산 어유의
고품질화 및 용도 개발

High Quality Production and Its Application of Marine Fish
Oil by Environmental Affinity Non-heat Treatment
Process

2002. 10. 4.

부경대학교 SG연구사업단

해양수산부

제 출 문

해양수산부 장관 귀하

본 보고서를 “ 환경 친화적 비열처리 공정에 의한 해산 어유의 고품질화 및 용도개발에 관한 연구”과제의 보고서로 제출합니다.

2002. 10. 4 .

주관연구기관명 : 부경대학교

주관연구책임자 : 전 병 수

세부과제책임자 : 안 동 현

연 구 원 : 옥 임 호

” : 조 지 영

” : 박 선 영

” : 이 현 영

요 약 문

I. 제 목 : 환경 친화적 비열처리 공정에 의한 해산 어유의 고품질화 및 용도 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

해산 어유로부터 기능성 물질인 고도 불포화지방산을 유기용매와 열을 사용하지 않고 효율적으로 분리하고, 제품의 기호성 및 관능성을 저하시키는 요인인 비린내와 특유의 이취 등을 제거하는 친환경적 분리 공정을 개발하여 식품 및 사료로의 이용 가치를 높이는데 목적이 있다. 어류에 존재하는 기능성 어유성분을 회수하기 위해서 전처리 된 원료에 비열처리 유체를 접촉시켜 온도 및 압력 변화에 따른 유용성분의 성질을 검토하고 비열처리 유체의 물리적 특성을 고찰하여 식품 및 의약품 산업 활용에 기초자료를 제공함으로써 상업화하고, 비열처리 유체를 이용한 해양 가공부산물로부터 유용성분 추출공정에 대한 설계에 있어서 기초자료로 제공과 해조류의 구성성분의 화학구조를 밝히고, 그 생리기능을 확인함으로써 민간요법이나 전래에서 알려진 임상결과를 뒷받침하고 제품제조 특허를 얻음으로써 향토의 명성을 알리며, 기능성식품, 제약, 화장품 산업의 원료로 제공하며, 관능, 기능 및 안전성 등의 표준화된 신소재 기능성식품개발로 국민 건강증진과 농가소득 신규사업으로 육성한다.

III. 연구개발의 내용 및 범위

해산 어류에는 식품, 의약품, 생활용품 등의 분야에 고부가가치성 기능성물질로 이용될 수 있는 유용한 성분이 다량 함유되어 있으나 기존의 재래식 분리 공정에서는 기능성물질의 순도, 수율, 환경 문제 등으로 제한을 받고 있으므로 친환경적이면서 고순도의 기능성 물질을 분리하는 공정이 필요하다. 따라서 본 연구에는 재래식 분리 공정에서 발생하는 문제점을 해결할 수 있는 비열처리 유체를 이용하여 해산 어류에 존재하는 천연 기능성 물질들을 고순도로 분리하기 위한 친환경적 비열처리 분리공정 최적화를 확립하고 실험 조건 따른 유용성분의 성질을 검토하고 비열처리 유체의 물리적 특성을 고찰하여 식품, 의약품, 생활용품 산업 활용에 기초자료를 제공함으로써 실용화의 기틀 확보하는데 그 목적이 있으며, 또한 해산 어류 기능성물질의 구성성분의 화학구조를 밝히고, 그 생리기능을 확인하여 기능성식품, 제약, 화장품 산업의 원료로 제공하며, 관능, 기능 및 안전성 등의 표준화된 신소재 기능성식품을 개발한다.

IV. 연구개발결과

본 연구에서는 고도불포화 지방산의 정제와 이취성분의 제거를 위한 비열처리 공정의 회분식과 연속식 공정을 효과적으로 설계하였으며, 오징어 내장유와 참치 안구유등 해산어류의 DHA 및 EPA등의 고도불포화지방산의 함량과 정제시의 회수율을 검토하였다. 또한 정제된 어

류를 이용한 식품의 적용 가능성을 검토하였으며, 생리물질의 기능성도 확인하였다. 초임계 이산화탄소를 이용한 고도불포화지방산의 정제는 초기의 DHA 함량이 26%인 해산어유로부터 32.7%로 초기함량대비 25.7%의 증가를 가져왔으며, 악취물질을 포함한 휘발성 성분은 초기함량대비 0.83%로 99.17%의 제거율을 보였으며, Dimethyl disulfide 등의 동정된 악취성분들은 초임계 이산화탄소 처리를 통하여 99.8%의 제거율을 보였다. 또한 소시지의 제조를 통해 알아본 고도불포화 지방산 함유 어유의 가공특성은 초임계 이산화탄소 처리를 한 어유의 경우 가공특성과 향산화성 그리고 관능적 테스트에서 원시료와는 현저한 차이를 나타내었고 이러한 결과를 통해 초임계 이산화탄소 처리를 이용한 어유의 경우 기존의 유지를 일부 대체 할 있는 것으로 나타났다. 또한 생리활성물질의 기능성을 쥐를 통해 검증한 결과 기존의 고도불포화 지방산의 생리활성 연구 결과와 같이 초임계 이산화탄소 처리 안구유 투여가 혈 중 중성지방의 수준을 낮추어 줌으로써 혈관벽에 간접적인 영향을 주어 심혈관계질환의 위험을 감소시켜 줄 것으로 보인다. 이상의 결과를 통해 해산 어유를 초임계이산화 탄소를 정제는 어유의 가공특성을 향상 시켜주며, 생리기능성물질의 정제에도 효과적인 것으로 나타났다.

V. 연구개발결과의 활용계획

본 연구 결과 기존의 연구들에서 이미 어유로부터의 고도불포화 지방산의 농축 및 정제 기술은 알려졌으나, 이를 위한 시료의 준비과정이 복잡하고 수율이 낮다는 단점이 있다. 따라서 가공공정의 단순화와 비용의 절감을 위해 시료자체를 이용해 80%이상의 고도의 순도를 가지는 고도불포화 지방산의 정제를 위한 공정의 개발이 필요하다고 생각되며, 어유의 이용에 가장 큰 걸림돌이 되고 있는 비린내 등의 이취의 제거방법에서도 본 연구에서 전체 휘발성 성분과 일부 악취 유발성분들의 제거 정도는 연구되었으나, 이의 정량적인 분석방법과 악취 성분의 완전한 제거를 위한 연구가 계속해서 진행되어야 한다고 생각되며, 본 연구는 이러한 상업적인 공정을 위한 기초자료로 유용하게 사용될 것으로 생각된다.

VI. 기대효과

본 연구가 지속 적으로 진행된다면 해산 어유로부터의 고부가가치의 기능성 물질의 정제와 이를 이용한 새로운 식품의 개발과 의약품 원료로의 이용 등 그 사용범위는 확대될 것으로 사료된다. 특히 본 연구에서 사용된 시료는 해산물의 가공공정에서 발생하는 부산물을 이용한 것으로 기존의 가공공정이 고가의 비용과 낮은 수율에 불과한 반면 초임계 유체를 이용한 가공공정을 통하여 생산비용을 절감하고 높은 수율의 제품을 생산하게되면 부산물의 이용과 생산비용의 절감을 통한 고부가가치의 제품 생산이 가능할 것으로 생각된다.

S U M M A R Y

The objectives of this study were to determine the possibilities that polyunsaturated fatty acids such as EPA and DHA from by-products fish oils were extracted and fishy and off-flavor were removed by supercritical carbon dioxide. Moreover, the fish oils treated by supercritical carbon dioxide(SC-CO₂) were tested by the processing characterization of the fish oil and the activity of the physiology materials.

The refining of the squid oil, using SC-CO₂ with ethanol as entrainer, was performed in a semi-batch extractor at 8.3 to 13.8MPa and 25 to 45°C. when 1.53% w/w ethanol was added to the solvent, the solubility of lipids increased by up to 90% over the near CO₂ value. The extraction curves showed mass transfer to be solubility limited and the composition of extracts to be relatively uniform throughout an extraction.

The purification of the tuna fish oil was performed by SC-CO₂ at the follows experimental conditions: 70 to 200bar of pressure, 10 to 25g/min of CO₂ flow rate and 40 to 80°C of temperature. The content of DHA in the oil was increased from 26% to 32.7% at 40°C, 140bar after SC-CO₂ extraction. Experiment for removal volatile compounds by SC-CO₂ from fish oil was performed at 20 to 60°C and 60 to 200bar. Volatile compounds were eliminated to 99.17% at 30°C and 200bar. Off-flavors such as dimethyl disulfide compounds were eliminated to 99.8% at 40°C and 200bar.

The fish oil treated with SC-CO₂ was detected as a low level of oxidation, even though it consists of a high unsaturation. It was suit to manufactured products because it was low viscosity and yellowness but also high lightness. In the characterization of emulsion sausages to substitute 12.5% of fish oil for fat of pigs, emulsifying stability, texture characteristics, color, pH and sensory characteristics were generally stabilized. The major function of fish oil were revealed a decrease of cholesterol and triglyceride in blood and an inhibition of climateric troubles.

C O N T E N T S

CHAPTER 1 ABSTRACT	10
Paragraph 1. Purpose of Research	10
Paragraph 2. Background of Research	11
1. Technical Aspects	11
2. Economical • Industrial Aspects	11
3. Social • Cultural Aspects	12
 CHAPTER 2 RESEARCH DEVELOPMENT OF DOMESTIC AND OVERSEA	 13
 CHAPTER 3 RESEARCH ACHIEVEMENT CONTENTS	 15
Paragraph 1. Concepts of Supercritical Fluid	15
1. Principle of Supercritical Fluid Separation Technology	15
2. Characterization of Supercritical Fluid	16
3. Advantage and Disadvantage of Supercritical Fluid and Its Application	18
Paragraph 2. Experimental and Method	19
1. Extraction of Polyunsaturated Fatty Acid form Squid Viscera Oil	19
2. Purification of Polyunsaturated Fatty Acid from Tuna Oil	22
3. Removal of Volatile Compounds by Supercritical Carbon Dioxide	24
4. Removal of Volatile Compounds by Using the Continuous Process	26
5. Characterization of Polyunsaturated Fatty Acid by Processing the Supercritical Carbon Dioxide	28
6. Processing Suitability	29
7. Assay of Physiology Material	30
 CHAPTER 4 RESULT AND DISCUSSION	 33
Paragraph 1. Extraction of Polyunsaturated Fatty Acid form Squid Viscera Oil	33
Paragraph 2. Purification of Polyunsaturated Fatty Acid from Tuna Oil	39
Paragraph 3. Removal of Volatile Compounds by Supercritical Carbon Dioxide ..	42

Paragraph 4. Removal of Volatile Compounds Using the Continuous Process	54
Paragraph 5. Characterization of Polyunsaturated Fatty Acid by Processing the Supercritical Carbon Dioxide	59
Paragraph 6. Special Property of Processing	61
Paragraph 7. Assay of Physiology Material	68
CHAPTER 5 CONCLUSION	74
CHAPTER 6 THE ACHIEVEMENT AND THE CONTRIBUTION TO THE RELATIVE FIELDS	78
CHAPTER 7 APPLICATION OF RESULT OF THIS RESEARCH	79
CHAPTER 8 INFORMATION ABOUT OVERSEAS SCIENCE TECHNOLOGY IN THE RESEARCH STAGE	80
CHAPTER 9 REFERENCES	81

목 차

제 1 장 연구개발 과제의 개요	10
제 1 절 연구개발의 목적	10
제 2 절 연구개발의 필요성	11
1. 기술적 측면	11
2. 경제·산업적 측면	11
3. 사회·문화적 측면	12
 제 2 장 국내외 연구개발 현황	 13
 제 3 장 연구개발 수행 내용	 15
제 1 절 초임계 장치의 개요	15
1. 초임계 유체 분리 기술의 원리	15
2. 초임계 유체의 특성	16
3. 초임계 유체의 장·단점 및 응용분야	18
제 2 절 실험 및 방법	19
1. 오징어 내장유를 이용한 고도불포화 지방산의 정제	19
2. 참치 안구유를 이용한 고도불포화 지방산의 정제	22
3. 초임계 유체를 이용한 어유의 휘발성 성분의 제거	24
4. 연속식 공정을 이용한 어유의 휘발성 성분의 제거	26
5. 초임계 유체 처리 불포화 지방산의 특성	28
6. 초임계 유체 처리 어유의 가공 특성	29
7. 생리기능 물질의 활성 검증	30
 제 4 장 결과 및 고찰	 33
제 1 절 오징어 내장유를 이용한 고도불포화 지방산의 정제	33
제 2 절 참치 안구유를 이용한 고도불포화 지방산의 정제	39
제 3 절 초임계 유체를 이용한 어유의 휘발성 성분의 제거	42
제 4 절 연속식 공정을 이용한 어유의 휘발성 성분의 제거	54
제 5 절 초임계 유체 처리 불포화 지방산의 특성	59
제 6 절 초임계 유체 처리 어유의 가공 특성	61

제 7 절 생리기능 물질의 활성 검증	68
제 5 장 결론	74
제 6 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	78
제 7 장 연구개발결과의 활용계획	79
제 8 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	80
제 9 장 참고문헌	81

제 1 장 연구 개발 과제의 개요

제 1 절 연구 개발의 목적

그린랜드에 사는 에스키모인에 대한 역학 조사결과 지방 섭취율이 덴마크인과 비하여 높은 수준임에도 불구하고 순환기계 질환에 의한 사망자가 거의 없으며, 암의 발생율이 현저하게 낮다. 이에 대한 역학 조사결과 그들이 섭취하는 생선중의 지질인 ω -3계 고도불포화지방산의 함량이 매우 높았다는 사실이 밝혀짐에 따라 이들 지방산에 대한 관심이 증가하게 되었다.^(1~4) 그 후 계속된 연구를 통하여 ω -3계 지방산의 영양학적인 가치와 생리적인 활성에 대한 새로운 사실들이 밝혀지면서 사람이나 동물에서는 거의 합성되지 않으며 음식으로 섭취되는 ω -3계 고도불포화지방산의 건강식품 및 의약품으로서의 응용에 대한 연구가 계속되고 있다.

고도불포화지방산 중 ω -3계 불포화지방산의 하나인 cis-5,8,11,14,17 eicosapentaenoic acid (EPA, C_{20:5})는 혈액 중의 cholesterol, 중성 지질의 농도를 현저히 저하시키는 작용이 있어, 혈전증, 동맥경화증 등 순환기 계통의 질환 방지⁽⁵⁾ 및 특정한 종양의 발육 억제효과가 있다는 것이 확인되고 있다⁽⁶⁾. 또한 EPA보다도 불포화도가 높은 cis-4,7,10,13,16,19 docosahexaenoic acid(DHA, C_{22:6})는 학습 능력향상^(7,8) 및 시력보호에도 효과가 있다는 것이 동물실험을 통하여 밝혀지고 있어 EPA 및 DHA를 주요성분으로 하는 고도불포화지방산을 다량함유하고 있는 각종 제품이 소위 건강식품으로서 널리 시판되고 있다⁽⁹⁾. 이들 제품은 저온분별결정법, 염형성법, 혹은 요소부가법 등 비교적 간단한 조작으로 어유 지방산으로부터 농축하여 분리하고 있다. 또한 감압증류법, 고속액체 크로마토그래피법, 자동분리가스 크로마토그래피법 등도 고순도의 EPA와 DHA를 얻기 위하여 이용한다. 그러나 이들 방법을 이용하는 경우 ω -3계 지방산은 공기중에서의 산화 및 열 등에 매우 불안정하고, 산화분해, 중합, 전위, 이성화 반응 등을 쉽게 일으키기 때문에 종래의 농축 및 분리 방법은 아주 낮은 온도에서 행하여야만 한다. 여기에서 새로운 방법으로 대두된 것이 초임계 이산화탄소 추출법에 의한 고도불포화지방산의 분리 및 농축이다. 최근 이 공정이 많은 관심을 끄는 이유는 제품의 고품질화와 높은 수율을 기대할 수 있으며 온도, 압력의 변화 조건이 광범위하기 때문이다. 초임계 유체 추출법은 기체의 임계점보다 높은 온도와 압력하에 주어진 물질로부터 용질을 추출하는 방법이다. 초임계 유체는 기체와 액체의 물성을 절충한 특수한 물성을 나타내는데, 밀도는 액체의 밀도에 가깝고, 점도는 기체의 점도에 가까우며, 확산계수는 액체의 확산계수보다 약 100배 정도 크게 나타난다. 따라서 용해력과 침투력이 커서 추출효율이 높고 추출속도가 빠른 장점을 가지고 있다. 또한 적은 에너지로 용매의 회수가 용이하며, 간단히 온도와 압력을 변화시켜 용해력을 조절할 수 있으므로 목적물을 선택적으로 추출할 수 있으며⁽¹⁰⁾, 용매 추출법보다 사용 용매의 범위가 넓다. 그 뿐만 아니라, 용매가 제품으로부터 쉽게 제거될 수 있다는 것이 큰 장점이다. 특히 이산화탄소는 불연성이고 인체에 무해하며, 임계온도가 낮아 열에 민감한 성분을 안정하게 추출할 수 있어서 식품 공업 등 많은 분야에 응용되고 있다.

본 연구에서는 국내에서 다량소비되는 오징어의 가공시 폐기물로 버려지는 오징어 내장유와 참치 가공시 발생하는 어유로부터 기능성 물질인 고도 불포화지방산을 유기용매와 열을 사용하지 않고 효율적으로 분리하고, 제품의 기호성 및 관능성을 저하시키는 요인인 비린내, 이취 등을 제거하는 친

환경적 분리 공정을 개발하여 식품 및 사료로의 이용 가치를 높이는데 목적이 있다. 어류에 존재하는 기능성 어유성분을 회수하기 위해서 전처리 된 원료에 비열처리 유체를 접촉시켜 온도 및 압력 변화에 따른 유용성분의 성질을 검토하고 비열처리 유체의 물리적 특성을 고찰하여 식품 및 의약품 산업 활용에 기초자료를 제공함으로써 상업화하고, 비열처리 유체를 이용한 해양 가공부산물로부터 유용성분 추출공정에 대한 설계에 있어서 기초자료로 제공과 해조류의 구성성분의 화학구조를 밝히고, 그 생리기능을 확인함으로써 민간요법이나 전래에서 알려진 임상결과를 뒷받침하고 제품제조 특허를 얻음으로써 향토의 명성을 알리며, 기능성식품, 제약, 화장품 산업의 원료로 제공하며, 관능, 기능 및 안전성 등의 표준화된 신소재 기능성식품개발로 국민 건강증진과 농가소득 신규사업으로 육성하고자 한다.

제 2 절 연구 개발의 필요성

해산 어유에는 뛰어난 기능성을 지니는 불포화지방산이 다량 존재한다. 그러나 재래식 분리 정제 공정에서는 비린내와 특유의 이취를 나타내는 성분의 분리가 어려워 기호성에 문제가 있어 식품 및 사료로서의 이용에 제한이 되고 있다. 따라서 비린내와 같은 기호성을 떨어뜨리는 요인을 제거하고 기능성 불포화지방산을 효율적으로 분리할 수 있는 공정의 개발 및 최적화가 요구되고 있는 실정이다. 또한, 새로운 형태의 식품을 개발하여 그 용도를 다양화하고, 기존의 제품에 있어 비린내가 문제가 되어 사용이 제한된 경우 첨가량을 증가시켜 기능성을 최대화하는 연구가 필요한 실정이다. 어류의 사료에 있어서도 기능성 불포화지방산을 대량 함유하도록 하여 어체에 불포화지방산 함유량을 증가시킴으로써 식품재료로서의 영양적 가치를 증대시킬 수 있는 방법이 요구되고 있다.

1. 기술적 측면

초임계 유체를 이용한 분리 기술은 재래식 분리공정의 대체 기술로 천연물질에 존재하는 대상물질을 추출공정의 설계와 실험조건을 변화시켜 선택적으로 분리 정제하여 식품, 의약품, 생활용품 산업에 응용되어 우수한 제품이 개발되고 있다. 경제성장에 따른 소비자들의 생활용품은 천연원료에 의해 생산된 제품으로 선호도가 높을 뿐만 아니라, 향상된 식생활 개선이 요구되고 있으므로 품질이 우수한 제품은 반드시 잘 정제된 좋은 천연원료에서 비롯된다. 또한 제조업분야에서 발생하는 환경오염은 쾌적한 생활공간에 큰 악영향을 주고 있다. 따라서 초임계 분리기술은 환경 친화적이며 천연물질을 원료로부터 기능성물질을 분리정제하고 유해성 물질을 제거할 수 있는 고유의 기술로서 식품, 의약품, 생활용품 산업에 필요로 하는 기술이다.

2. 경제 · 산업적 측면

천연물질에는 식품, 의약품, 생활용품에 사용되어 기능성과 생리활성을 나타내는 고부가 가치성의 다양한 물질들이 함유되어 있으나 재래식 분리기술에 의해 분리정제된 원료의 제품 개발은 경제성 및 경쟁력의 문제점을 내포하고 있다. 그러나 초임계 분리공정은 소규모의 시설과 전문성을 가진 소수 인원으로 고부가가치 제품을 생산할 수 있는 장점이 있다. 국내에서의 초임계 분리기술을 이용한 천연물 분리정제 제품생산의 문제점은 대량 생산설비 공정에 대한 기초연구자료 부족 및 설비능력의 한계로 고체상의 천연원료로부터 정제된 목적성분을 분리하여 제품화시키기에는 경제성의 약화로 볼 수 있다. 반면에 어유등으로부터의 고도불포화 지방산의 정제는 비교

적 단순한 공정에 의해 생산할 수 있으며, 또한 액상의 1차 가공처리된 천연 원료는 DHA 및 EPA 등의 다양한 기능성 물질을 함유하고 있으나 자체에 함유된 불순물이나 이취 등으로 인하여 식품, 의약품, 생활용품의 원료로 사용이 어려운 경우가 대부분이다. 그러나 이를 초임계 유체를 이용하여 추출·정제할 경우 이러한 단점을 보완할 수 있으며 대량생산을 통한 원가의 절감으로 제품의 품질 향상과 경제성, 경쟁성을 가질 수 있다.

3. 사회·문화적 측면

국민소득 향상에 따라 윤택한 생활에 대해 많은 관심을 가지고 있으나, 생활의 실질적 향상에 있어서 직접적인 영향을 주는 식품, 의약품, 생활용품에 사용되는 정제 원료는 수입에 의존하고 있으며, 국내의 천연물질로부터 기능성 소재의 분리 정제기술은 환경보전과 제품의 질적인 문제를 초래하는 재래식 방법에 의존하고 있다. 따라서 기존의 제품 생산 시 다량으로 발생하는 부산물인 해산 어유등의 부산물을 효과적으로 이용함으로써 양질의 식품 원료 및 의약품원료를 공급하여 국민보건 증진에 기여하고자 한다.

제 2 장 국내외 연구개발 현황

재래식 분리기술을 이용하여 특정 성분을 추출할 경우 불순물의 혼입 및 유해물질인 용매의 회수가 불가능하여 의약품 소재로의 활용이 어려울 뿐만 아니라 심각한 환경 오염을 야기하고 있다. 초임계 유체 추출법은 기존 분리기술 방법들(증류, 흡수, 흡착, 침출, 막분리 등)에 비해 에너지 비용이 경제적이고 또한 분리효율이 우수하다는 자료가 발표되었으며 미국, 독일, 일본 등 선진국들의 초임계 유체 추출에 대한 수준 높은 공업적 응용 기술은 위에 제시된 응용 분야의 특허를 취득하는데 결정적 기여를 했다. 초임계 유체를 이용한 분리 기술은 재래식 유기용매 추출법의 대체 분리기술로 1980년대에 최초로 상업화된 분야는 초임계 이산화탄소를 추출용매로 한 커피에 있는 카페인 제거 기술이다¹¹⁾. 최근 초임계 추출을 이용한 응용분야는 그 범위가 점점 넓어지고 있는 추세다. 천연물질에 존재하는 기능성 물질에 대한 분리공정이 개발되어 재래식 추출공정에서 발생하는 추출원료의 열에 대한 변성, 목적 성분의 유기용매와의 접촉에 의한 구조변형, 저비점 물질의 높은 휘발성에 의한 포집의 어려움 등을 해결함으로서 식품, 의약품, 환경 산업 분야에 큰 기여를 하고 있다. 최근에는 초임계 분리기술을 이용하여 의약품, 식품 분야에 많이 사용되고 있는 micro에서 nano 크기의 미립자 제조와 기능성 및 생리활성 물질을 생체고분자를 사용하여 micro-encapsulation 제품을 생산하여 기능성 물질의 효능과 제품의 품질을 높이는 신제품 개발에 성공을 거두고 있다. 따라서 선진국에서 생산되는 제품의 품질은 새로운 추출방법에 의해 추출된 물질과 최신 제조 공정에 의해 위생적이며 품질의 우수성은 후진국의 제품들과의 커다란 차이를 나타내고 있다. 또한 fish에 풍부하게 존재하는 기능성 물질인 고도 불포화 지방산(DHA, EPA)을 분리 정제하는 기술과 fish protein concentrate(FPC)를 제조하는 기술이 개발되어 초임계 추출 기술을 이용한 수산물 가공 분야의 밝은 전망을 보이고 있다¹²⁻¹⁷⁾.

최근 국내에서도 초임계 유체를 이용한 기초연구 결과가 많이 발표^{17,18)}되고 있으며, 일부 실험자료는 상업적 응용가치가 매우 높은 것도 있다. 그러나 본 기술에 대한 국내의 문제점은 기초연구자료를 사용하여 상업화할 경우 고압설비에 대한 자료가 부족하며 공정에 사용되는 핵심부품(펌프, 정밀 밸브류, 정밀 계기류)은 수입에 의존하고 있다. 그리고 다양한 천연물질의 풍부한 원료로부터 식품, 의약품, 생활용품 용도의 기능성 물질을 추출하여 제품을 개발하기 위해서는 반드시 세분화된 영역에서 관련되는 연구자와의 연계 연구가 진행되어야 한다. 특히 식품, 의약품 분야에 적용되는 기능성 물질에 대한 개발은 목적성분의 추출공정으로부터 최적조건에 대한 연구와 분리 정제된 목적성분에 대한 기능성 규명 그리고 그 기능성 물질의 용도 개발과 사업화에 대한 연구가 반드시 수행되어야 만이 신물질을 이용한 신제품 개발이 완성된다고 본다. 그동안 천연물질에 존재하는 기능성물질에 대한 구조, 활성, 안전성 등에 대한 기초연구가 활발히 진행되어 왔다. 그러나 규명된 기능성 물질에 대한 분리 정제 기술이 미약하여 대량생산하여 상업화시키는데 큰 성과를 거두지 못했다. 따라서 초임계 분리기술을 이용하여 천연물질에서 유용한 성분을 분리하여 신기능 물질을 규명하고 그 사용 용도를 개발하여 생산하기 위한 중요한 분리 정제 기술이다. 그러나 외국에서 초임계 분리 기술을 도입할 경우 막대한 기술료와 사후 공정 유지 및 관리 측면에서 큰 어려움이 예상되어 효율적인 운영에 문제점이 발생할 것으로 예상되므로 핵심 부품은 수입하지만 국내 기술에 의한 공정 설계 및 운전이 절실하다.

초임계 유체 추출법은 천연물질에서 유용성분 분리와 난휘발성 물질의 추출, 유해성분의 제거, 1차 가공원료의 고도 정제하여 식품, 의약품, 생활용품 등 그 응용 범위가 크며, 재래식

분리 정제과정에서 발생하는 문제점들을 해결할 수 있는 분리기술로 전망이 매우 밝다. 임계점 위에 존재하는 초임계 영역은 온도, 압력 변화에 따라 운전 조업 영역이 다양하게 변화되고 또한 초임계 유체의 물성(점도, 밀도, 확산계수)이 온도와 압력에 의존하므로 혼합물질에 존재하는 특정성분을 추출할 경우 그 특정성분의 물리적 성질이 파악되면 그 물질의 용해도가 초임계 유체에 크게 유지되는 조건을 찾을 수 있으므로, 특성성분의 추출이 가능하다. 초임계 유체 추출에 의해 분리된 유용성분은 순도가 매우 높아 기능이 상대적으로 높다. 따라서 작은 규모의 설비 조건에서 단위 생산 원료의 가격이 매우 높은 고부가가치성 제품을 생산할 수 있어 경제성 제고가 뛰어나다. 특히 경제성장에 따른 소득의 향상은 소비자로 하여금 저렴한 가격으로 생산되고 있는 합성 제품보다 천연물질에서 추출된 고품질의 제품을 선호하고 있는 추세다. 본 과제 개발성공에 대한 전망은 해조류에서 생리기능 탐색으로 신규화합물을 분리함으로써 물질특허 획득하여 고혈압 억제물질 규명으로써 민간요법의 정당성을 뒷받침하고 궁극적으로 고혈압을 예방할 수 있는 생물체제의 원료로 공급하고 콜레스테롤, 지방산화 억제효과의 활성이 검증되므로 현대 성인병 예방에 일조할 뿐 만 아니라 멜라닌 색소억제 등의 피부미용에 탁월한 효과 입증으로 여성음료와 화장품의 원료로서 개발 기여 그리고 항돌연변이 검증으로 새로운 식품모델로서 검증될 수 있다. 초임계 유체를 사용한 신제품 개발분야의 기대되는 응용 분야는 다음과 같다.

분야	응용 가능 분야
식품	<ul style="list-style-type: none"> - 천연물질에서 기능성 물질 추출 (Vitamin류, 색소, 항산화 물질 등) - 부산물에 존재하는 기능성물질 회수 - 잔류 농약 및 유해성분 제거 - 단백질의 미립자화 - 단백질농축 - 비열처리에 의한 살균 - 알콜 농축 - 식품 제조공정의 cleaning system - Micro encapsulation
의약품	<ul style="list-style-type: none"> - 천연물질로부터 약리성, 생리활성 물질 추출 - 효소 분리 정제 - 생체 고분자를 이용한 미립자 의약품 원료 제조 - Nanosize 생산에 의한 약물전달 시스템 강화
생활용품	<ul style="list-style-type: none"> - 천연향을 이용한 향장 원료 생산 - 기능성 물질을 이용한 소취제 개발
화학·환경	<ul style="list-style-type: none"> - 폐수처리를 위한 수산화 공정 - 유기성 폐원료의 재 자원화

제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과

제 1 절 초임계 장치의 개요

1. 초임계 유체 분리 기술의 원리

초임계 유체 추출 공정은 분리 기술의 하나로 액상(液相)과 기상(氣相)이 구분되지 않는 임계점(critical point)보다 높은 영역에서 추출 공정이 행해지므로, 혼합 물질로부터 특정 성분을 분리하기 위하여 상온, 상압 하에서 구성 성분의 용해도 차를 이용한 용매 추출법(solvent extraction)과 흡수(absorption), 혼합 물질에 존재하는 성분의 비점의 차를 이용한 증류(distillation) 등과 같은 재래식 추출 공정과는 근본적으로 다르다. 초임계 유체는 임계점 이상의 영역에 있는 유체로서, 추출에 사용되는 유체의 압력이 기체일 때보다 훨씬 높은 밀도에서 추출이 수행되므로 농축 기체 추출(Dense gas extraction)이란 용어도 많이 사용하고 있다. 이 추출법을 설명할 때 '기체가 액화된 상태' 인지 또는 '초임계 상태' 인지가 명확히 구분될 필요가 있을 경우를 제외하고는 '농축된 상태' 라는 용어를 사용하고 있다. 초임계 추출에서 용매의 용매력(solvating power)은 용매의 밀도에 크게 의존하므로 추출 공정에서 물리적 성질 변화에 따른 초임계 유체의 상 거동(phase behavior)에 대한 이해가 필요하다.

Fig. 1은 순수한 이산화탄소에 대하여 온도를 parameter로 한 압력과 밀도 변화에 따른 상 거동을 나타낸 것이다. 이산화탄소의 임계점은 임계온도 31.1℃, 임계압력 73.8bar, 임계 밀도 0.468g/cm³의 값을 나타낸다. 이 임계점 부근에서는 물성이 크게 변화하는데 특히 밀도는 주어진 등온선에서 작은 압력 변화에 의해서도 크게 변하는데, 이것은 혼합 물질로부터 용질을 용해하는 능력과 깊은 관계가 있다. 그림에 나타낸 SCF (Supercritical Fluid)는 초임계 유체 추출에 주로 적용되는 영역으로 임계 환산 온도 (Tr), 임계 환산 압력 (Pr), 임계 환산 밀도 (pr)는 각각 Tr = (1.2, 31~92 °C), Pr = (0.8~4, 28~200bar), pr = (0.5~2, 0.24~0.94g/cm³)이다. 이 영역에서는 근소한 압력 또는 온도 변화에 의하여 밀도가 크게 변하고, 혼합 물질로부터 추출되는 용질의 추출 효율 및 성분이 각각 다르므로 주어진 계(系)의 조건에서 특정 성분을 선택적으로 분리 할 수 있다. 특히 초임계 유체에 대한 비휘발성 성분의 용해도는 유체의 밀도에 비례하므로 혼합 물질에 존재하는 비휘발성 성분을 추출하는 공정에 초임계 추출법이 적용된다. 그리고 NCL (near-critical liquid)은 초임계 유체 영역 아래에 존재하는 임계점 부근에서의 추출 공정으로 임계 온도보다 낮은 온도에서 압력 변화에 따른 유체의 밀도는 액체에 근접하는 값을 나타내며, 이 영역에서의 추출은 천연물질(natural products)로부터 비휘발성 성분을 추출하는데 응용된다.¹⁹⁾

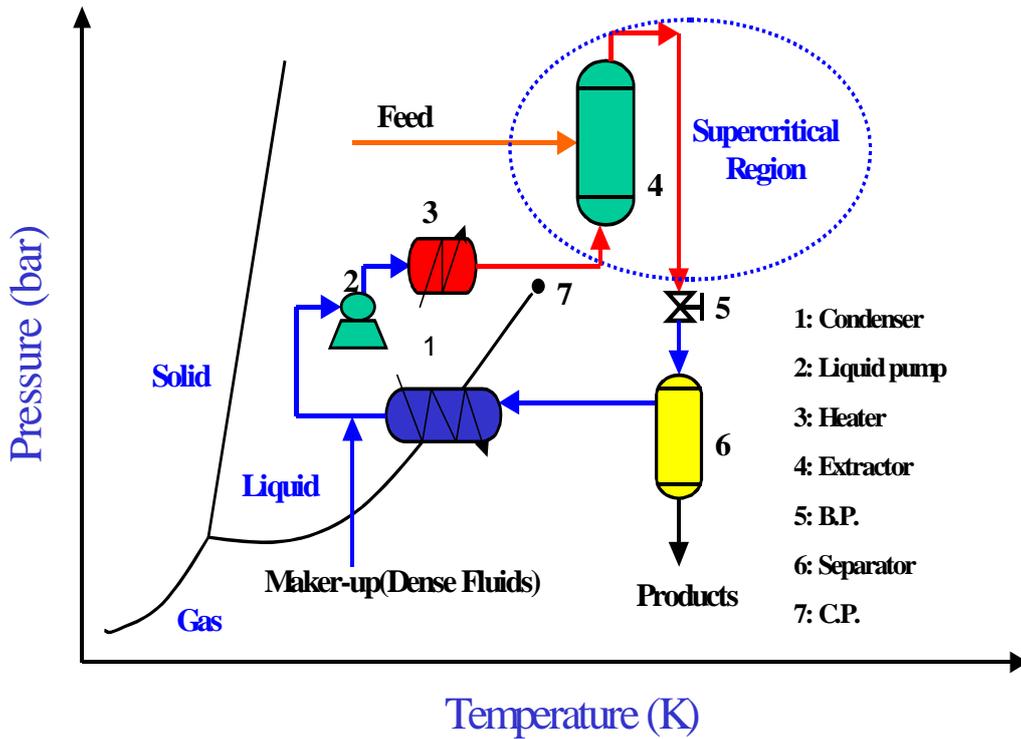


Fig. 1. Phase diagram of pure carbon dioxide in the critical point region

2. 초임계 유체의 특성

초임계 유체 또는 농축 기체를 이용하는 추출법은 원료로부터 특정 성분을 선택적으로 추출할 때 추출 속도를 높이고 유효성분을 변화 없이 분리 할 수 있는 특성을 지닌다. 초임계 유체는 액체 유기 용매와 마찬가지로 비휘발성 물질을 비교적 낮은 온도에서 용해하는 능력을 갖고 있지만 특수한 전달 물성치 (transport properties)인 밀도 (density), 점도 (viscosity), 확산계수 (diffusivity)를 가지고 있어서 용질을 함유하고 있는 원료 물질 내로 용이하게 침투 할 수 있으며, 물질 내에서 유체의 이동 속도가 빠르고 추출물을 함유한 유체가 흐를 때 압력 강하가 작다²⁰. Table 1은 초임계 유체, 기체 그리고 액체의 물성치 (밀도, 확산계수, 점도)를 비교한 값이다.

Table 1. Typical physical Properties of Supercritical Fluid

Property	Phase		
	Gas	SCF	Liquid
Density(g/cm ³)	(0.6~2.0)×10 ⁻³	0.2~0.9	0.6~1.6
Diffusivity(cm ² /s)	0.1~0.4	(0.2~0.7)×10 ⁻³	(0.2~2.0)×10 ⁻⁵
Viscosity(cps)	(1~3)×10 ⁻³	(1~9)×10 ⁻²	0.2~3.0

Table 1에 나타난 바와 같이 초임계 유체는 기체도 아니고 액체도 아닌 독특한 물성을 띤다. 일반적으로 특정 물질을 녹이는 용매의 용해력은 용매의 밀도에 비례하기 때문에

액체와 유사한 밀도를 갖는 초임계 유체도 액체용매와 같이 액체나 고체를 용해하는 능력을 갖게 된다. 또한 초임계 유체의 점도는 액체에 비해 훨씬 작고 확산계수는 액체의 값보다 훨씬 크기 때문에 초임계 유체를 추출용매로 사용할 때 빠른 물질 전달이 일어나 평형 상태에 신속하게 도달한다. 이와 같이 초임계 유체는 상온 상압에서 기체나 액체보다 용질에 대해 높은 용해력과 빠른 물질 전달 특성을 지니고 있음을 나타내고 있다. 따라서 앞의 독특한 물성치들은 초임계 유체를 이용한 추출 공정에서 추출 효율을 증가시키는데 중요한 인자로서 역할을 하므로 기존의 추출과 비교하여 초임계 유체 추출은 여러 가지 장점을 지니고 있다.

초임계 유체로 사용되는 추출 용매의 임계점은 추출 대상 물질의 선택과 추출 공정의 설계에 중요한 요인이 된다. 분자의 크기 및 극성이 다른 초임계 추출 용매들에 대한 임계점은 Table 2에 나타내었다. 이산화탄소는 무독성, 안전성, 내부식성, 경제성, 적절한 임계온도와 압력 등을 가진 이상적인 추출 용매로 알려져 있다.

초임계 유체 공정은 목적으로 하는 성분을 초임계 유체로 추출하는 과정과 초임계 유체를 분리하여 목적으로 하는 성분을 회수하는 분리과정으로 이루어져 있다. 추출단계에서는 원료와 초임계 유체 용매가 서로 밀접하게 접촉하여 원료 중의 가용성분이 초임계 유체로 용해된다. 추출단계에서 나오는 용질을 함유하고 있는 초임계 유체는 분리단계에서 용질과 분리된다. 분리된 초임계 유체는 압력과 온도가 재조정되어 추출단계로 재 순환된다. 추출 단계에서는 작업조건(온도, 압력)을 조정함으로써 초임계 유체의 용해력을 변경시켜 원료 중의 특정성분을 선택적으로 추출할 수 있다.

Table 2. Critical property data for some supercritical solvents

Substance	Critical		
	Temp(K)	Pressure(bar)	Density(g/cm ³)
Methane	190.6	46.0	0.162
Ethylene	282.4	50.3	0.218
Chlorotrifluoromethane	302.0	39.2	0.579
Carbon dioxide	304.2	73.8	0.468
Ethane	305.4	48.8	0.203
Propylene	365.0	46.2	0.233
Propane	369.8	42.4	0.217
Ammonia	405.6	113.0	0.235
Diethyl ether	467.7	36.4	0.265
n-Pentane	469.6	33.7	0.237
Acetone	508.1	47.0	0.278
Methanol	512.6	80.9	0.272
Benzene	562.1	48.9	0.302
Toluen	591.7	41.1	0.292
Pyridine	620.0	56.3	0.312
Water	647.3	220.6	0.322
Xenon	289.7	58.4	1.113

마찬가지로 분리단계에서도 변경하여 추출물의 성분을 분류할 수 있다. 온도 변화를 이용한 분리 공정이 압력변화를 이용한 분리공정보다 에너지 절약 면에서 효율적이지만 대체로 열에 약한 천연식품이나 의약품에 응용시 온도변화에 의한 분리방법은 주요한 성분들의 손실을 초래하므로 압력변화에 의한 분리조작이 더욱 널리 이용되는 추세이다^{21,22)}.

3. 초임계 유체의 장·단점 및 응용분야

비휘발성 용질이 초임계 유체로 이동하는 현상을 용질분자가 고밀도 응축상(condensed phase)으로부터 저밀도 팽창상(expanded phase)인 초임계 유체로 이행하는 증발현상(vaporization)이라고 볼 수 있고, 또 한편으로는 용질과 용매간의 상호 작용에 의한 용해현상(dissolution)이라고도 볼 수 있다. 이와 같이 초임계 유체 추출 기술은 증류(distillation)와 용매추출(extraction)의 원리가 같이 적용되는 복합기술(hybrid technology)의 성격을 갖고 있는 까닭에 여러 가지 독특한 장점을 갖는다.

가. 초임계 유체 추출의 장점

- (1) 압력, 온도 변화 및 entrainer에 의한 선택적 분리 및 회수의 우수성.
- (2) 추출용매와 추출된 용질의 분리용이
- (3) 환경 오염 방지 공정이 가능
- (4) 단순 공정에 의한 운전용이 및 에너지 경제성

나. 초임계 추출의 단점

- (1) 고압 공정에 의한 설비비의 부담
- (2) Process design을 위한 자료 부족

이러한 초임계 유체 분리기술의 응용분야는 초임계 추출법이 휘발도가 높은 액체에 적용하여 Azeotrop mixture를 분리하거나 hydrocarbon에서 특정성분을 추출하기도 하지만 초임계 추출법의 근본적인 장점은 액체 용매보다 적은 용매력 때문에 적절한 온도와 압력을 사용하여 낮은 휘발도를 갖는 물질은 선별적으로 분리할 수 있다는 것이다. 새로운 분리기술로써 각광을 받고있는 초임계 추출법은 고비점 물질들이 비교적 낮은 온도에서 가스화되어 초임계 상태의 혼합기체로부터 추출 용매와 추출된 용질의 분리조작이 간단하고 초임계 추출공정이 비교적 낮은 온도에서 행해지기 때문에 열변성이 쉬운 물질의 추출 시 매우 유용하다. 식품 및 의약품에 응용시 추출 용매로써 탄산가스와 같은 비독성 물질을 이용하므로 최종 제품에 인체에 해로운 불순물이 없다. 사용되는 추출 용매들은 일반적으로 저장이 용이하고 값싸게 구입할 수 있다.

최근 10여 년간에 걸쳐 초임계 유체 기술에 관한 관심이 높아지고 연구도 경쟁적으로 활발해짐에 따라 이 기술의 응용분야도 계속 확대되어가고 있다. 초임계 유체 추출 기술의 응용분야를 Table. 3에 나타내었다. 초임계 유체 추출 기술은 고도의 물질 분리 기술로서 환경, 화학, 의약, 식품, 향료공업 등과 같은 응용분야에 적용되고 있다^{23~30)}.

Table 3. Application areas for supercritical fluid extraction

Chemical and Food Industry	Fractionation polymer Porous polymer Swell polymers chemical fiber Chemicals from coals, metals isotopes, alcohols Spice extracts Lecithin Fat free proteins Vegetable fats and oils Animal fats Aromas and essences (Coffee, tea, hops) Natural coloring substances(Paprika) Aroma transfer Catalyst treatment Active-carbon treatment Fat refining(deacidification) Reduction of alcohol in beverages
Pharmacy	Alkaloids Sterines Antibiotics
Recycling of Residue	Used oils Polymer wastes

제 2 절 실험 및 방법

1. 오징어 내장유를 이용한 고도불포화지방산의 정제

재료 및 시약

본 실험에 사용된 오징어 내장유(Squid viscera oil)는 1998년 3월 경상북도 포항시 구룡포읍 소재 (주)동우산업으로 부터 제공받아 오징어 내장유의 head space를 질소가스로 치환한 후 냉장(4℃) 보관하여 추출용 시료로 사용하였다. 이산화탄소는 순도 99.9%의 식품용이었으며, 분석에 사용된 시약은 1급 시약이었다. 추출물의 지방산 분석은 lipid standard(fatty acid methyl ester mixture : Sigma, 189-19)를 사용하여 비교하였으며 콜레스테롤 분석은 cholesterol standard (cholesterol, standard for chromatography 99+% in purity : Sigma Chem. Co., USA)를 사용하여 분석하였다.

초임계 이산화탄소 추출장치

초임계 이산화탄소를 사용한 오징어 내장유의 지질추출에 대한 장치는 Fig. 2에 공정의 흐름은 Fig. 3에 나타내었다. 추출탑은 내경 2.9cm, 150ml 용량인 고압용 stainless steel을 사용하였고 흐름 line은 1/4"와 1/8"의 stainless steel pipe(316ss)를 사용하였다. 액체 이산화탄소로부터 용매를 초임계 압력으로 변환시키는 고압펌프는 51.7MPa의 용량을 가진 Milton Roy Pump는 추출탑으로 유입되는 이산화탄소의 유량을 정량적으로 pumping하였고, 보조용매인 에탄올(99%)을 정량적으로 주입시킬 수 있는 보조용매 pump는 Solvent

Delivery Pump(Young-lin scientific Co., model No.:930)를 사용하였다. 고압 상태로 추출 탭에 들어가고 나오는 초임계 이산화탄소의 온도를 측정하는 digital temperature measuring(Wavetek사, model No.:461 -112020) 장치와, 추출탭의 압력은 정확도가 높은 Heise Gauge에 의해 측정되었다. System내의 압력은 2개의 back pressure regulator로 조절하였고 추출탭 내의 미세한 압력은 metering valve와 needle valve로 조절하였다. 초임계 이산화탄소의 흐름공정은 초임계 이산화탄소와 지질을 분리하는 separator, 압력을 조절하는 metering valve와 needle valve, 온도를 조절하는 열교환기, 추출탭에 유입되는 초임계 이산화탄소의 사용된 양을 측정하는 flow meter(Sinagawa사, model No.:DC-2A) 로 구성되어 있다.

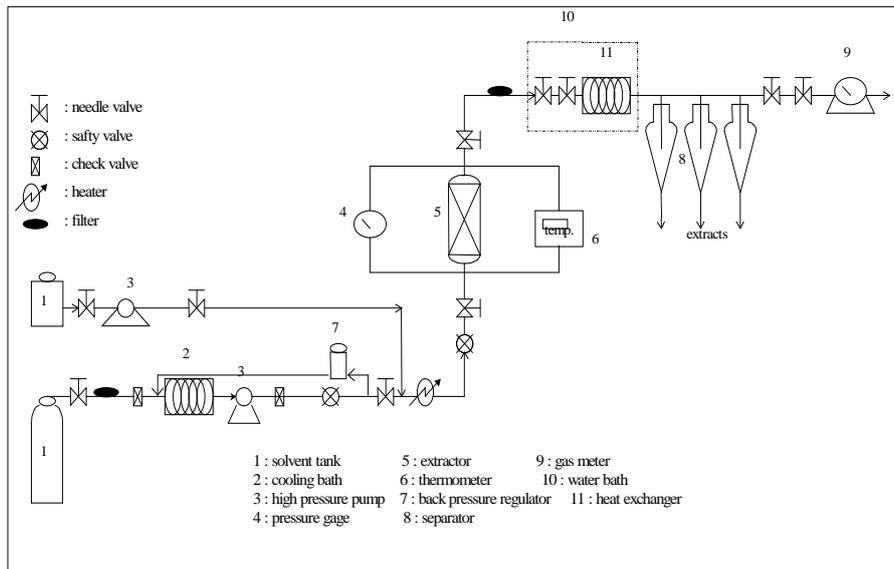


Fig. 2. Flow diagram of supercritical fluid process.

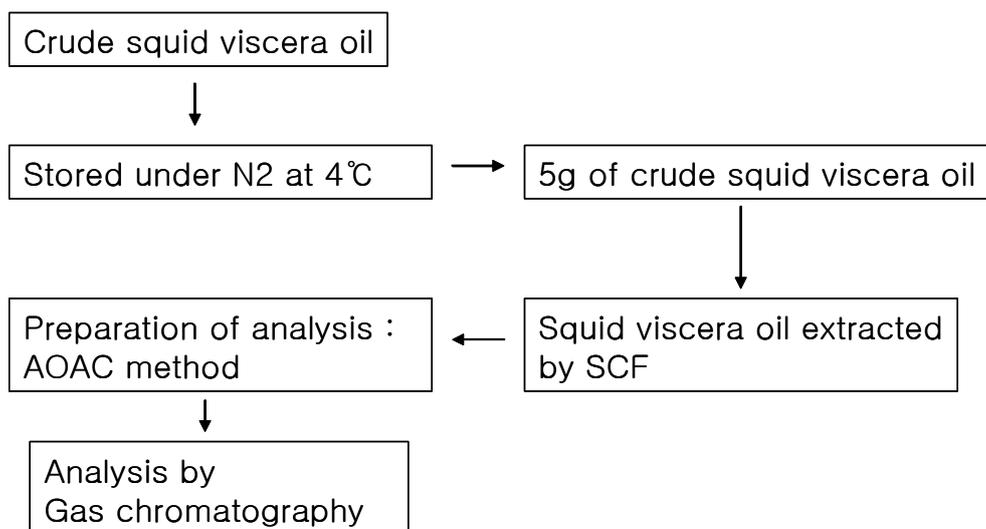


Fig. 3. Procedure of experiment.

초임계 이산화탄소 추출장치를 이용한 추출방법

실험에 사용된 초임계 추출 장치는 추출탑의 크기를 변경 할 수 있도록 제작되었다. 실험 방법은 포화 압력 상태인 이산화탄소(CO₂)가 cylinder로부터 냉각기(-20℃)를 통과하여 CO₂ 내에 존재하는 기포가 제거된 후 고압 metering pump에 의해 일정한 유량으로 유입되어 system내의 설정 압력까지 수행되어 졌다. 고압 펌프로부터 추출탑에 유입되기 전에 추출 용매로 작용하는 CO₂와 보조용매 pump로부터 유입되는 에탄올은 설정된 추출 온도에 따라 항온조에 의해 예열되어진다. 추출탑 내의 온도는 thermocouple에 의해 감지되어 추출 온도를 조절하게 되며 반응기 외부에 단열제를 부착시켜 반응기 내부의 온도를 일정하게 유지시켰다. System내의 전체 압력은 2개의 압력 조절기를 부착시켜 순간 압력변화로 인한 system내의 추출 조건 변화를 방지하였다. 고압 pump와 압력 조절기 앞에 7 micron filter를 설치하여 추출이 진행되는 동안 용매 CO₂ 와 고체 시료의 입자에 의한 system의 흐름이 중단되는 것을 방지시켰으며 safety valve를 부착시켜 system내의 excess pressure를 제거하였다. 또한 실험 종료 후 system내의 고압으로 인한 압력의 역류로 고압펌프의 손상을 방지하기 위하여 고압펌프 출구에 check valve를 설치하였다. 초임계 이산화탄소는 추출탑 내의 시료로부터 지질을 추출하여 낮은 압력 상태로 분리기내에 유입되어 용제와 용매를 쉽게 분리시킨다. 이때 추출공정 동안 사용된 CO₂의 양은 CO₂가 gas mater를 통과함으로 측정되며 gas mater통과 후 대기로 방출된다.

초임계 이산화탄소에 의해 추출된 추출물의 지방산 분석분석

추출된 시료는 AOAC법에 의해 0.2g을 환류 냉각관이 장착된 둥근 플라스크에 칭량한 후 0.5N NaOH in metanol을 6ml 가하여 100℃에서 중탕한다. 10분 후 10% BF₃ in methanol(Fluka Co.) 7ml을 가한다. 5분 후 6ml의 hexane을 가하여 2분간 방치 후 이 액을 분액 여두에 옮긴 후 포화NaCl용액 2ml을 가하여 30초간 shake 후 방치한다. 윗 층을 분리하여 놓아둔다. 아래층은 hexane으로 추출해낸 다음 윗 층과 합하여 물을 첨가하여 혼합한 후 물을 제거하며 anhydrous sodium sulfate로 아주 소량 남아 있을 물을 확실히 제거한 후 1 μ l를 Table 4와 같은 조건으로 Gas-Chromatography (Hewlett Packard 5890II)에 주입하여 분석하였으며 Gas-Chromatograph에 의해 측정되어진 추출물의 지방산 조성은 표준물질(lipid standard : fatty acid methyl ester mixture : Sigma, 189-19)의 peak와 비교하여 지방산 조성을 분석하였다.

Table 4. Operation condition of gas chromatography for analysing the fatty acids composition of total lipid in squid viscera oil

Gas Chromatography	
Model	Hewlett Packard 5890 II
Column	HP-INNowax(fused crosslinlinked polyethylene glycol capillary column, 30m×0.32mm I.D., 0.15 μ m film thickness, Hewlett Packard)
Carrier gas	N ₂ 1ml/min
Split ratio	64:1
Detector(FID)	300 $^{\circ}$ C
Injector	250 $^{\circ}$ C
Oven temperature profile	150 $^{\circ}$ C, hold 10min ; increase 3 $^{\circ}$ C/min to 201 $^{\circ}$ C, hold 12min ; increase 3 $^{\circ}$ C/min to 210 $^{\circ}$ C, hold 15min

2. 참치 안구유를 이용한 고도불포화지방산의 정제

재료 및 시약

본 실험에 사용된 참치안구유는 경상남도 창원시 소재 (주)동원산업으로부터 제공받아 참치안구유의 head space를 질소가스로 치환한 후 초저온냉동(-60 $^{\circ}$ C) 보관하여 실험용 시료로 사용하였다. 이산화탄소는 순도 99.9%의 식품용이었으며, 분석에 사용된 시약은 1급 시약이었다. 추출물의 지방산 분석은 lipid standard(fatty acid methyl ester mixture : Sigma, 189-19)를 사용하여 비교 분석하였다.

초임계 이산화탄소 추출장치

어유로부터 고도불포화 지방산을 추출하기 위한 초임계 추출장치의 모식도는 아래의 Fig. 4와 같다. 추출조는 56ml의 용량으로 6000psi의 압력, 100 $^{\circ}$ C의 온도범위를 유지할 수 있도록 설계되었으며, 추출조 내부에는 glass bead를 채워 초임계 이산화탄소와의 접촉이 충분히 일어날 수 있도록 하였다. 냉각기를 통해 액화된 이산화탄소는 정량 고압펌프(P-50, Thar Designs)로 추출조에 설정된 유량으로 일정하게 유입 시켰다. 추출 공정 시스템은 back pressure regulator와 미량조절 밸브를 이용하여 정량적인 유량을 조절하였고 압력 게이지를 부착시켜 추출압력 측정함으로써 정상상태가 유지되었다. 또한 check 밸브와 relief valve를 부착시켜 다양한 온도 및 압력 변화에 대한 추출공정의 안전성을 최대화하였다.

초임계 이산화탄소 추출장치

초임계 이산화탄소를 이용한 참치 안구유의 정제 실험은 온도범위 40℃~80℃, 압력범위 70bar~200bar, 유량 10~25g/min의 범위에서 수행되어졌다. 시료인 참치 안구유는 반응조에 정확하게 10g 충전된 후 설정된 온도와 압력 조건에서 반응이 이루어졌으며, 반응후의 추출물과 추잔물은 각기 분석 sample로 사용되었다.

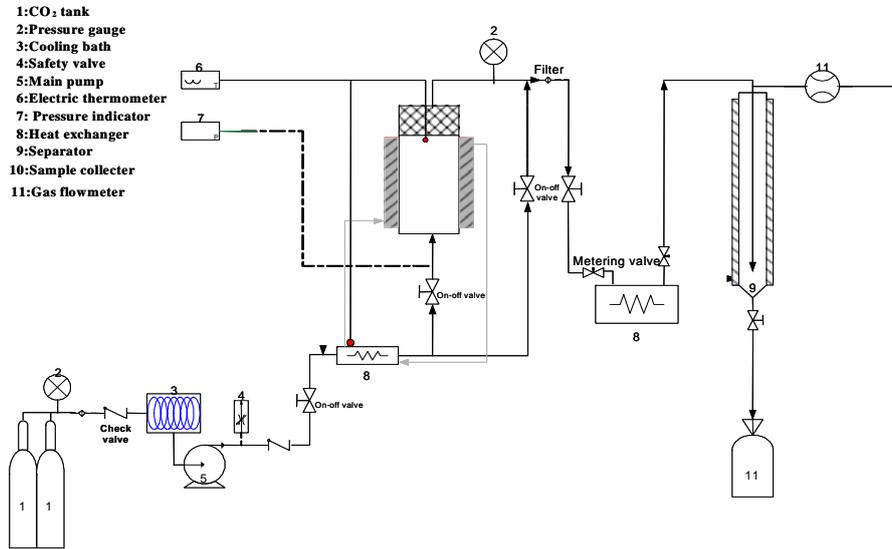


Fig. 4. Schematic diagram of Supercritical fluid process.

지방산조성의 측정

어유는 AOAC법에 따라 지방산을 Methylation하여 Gas chromatography로 분석하였다. 분석에 사용된 시약은 HPLC급(Fisher scientific)을 사용하였으며, 지방산의 표준물질은 SIGMA社에서 구입하였다. GC는 HP5890(Hewlett-Packard)을 사용하였고, Detector는 Flame Ionized Detector를 사용하였다. 지방산 분석을 위한 GC의 조건은 Table 5와 같다.

Table 5. Analytical condition of GC/FID

Model	Hewlett-Packard 5890
Column	HP-INNOWAX (30m×0.32mm×0.5μm)
Carrier gas & Flow rate	N2 0.1ml/min
Injector temperature	230℃
Detector temperature	260℃
Air/H2	9/1
Oven Temperature	150℃ → 2℃/min → 240℃ (15min)

3. 초임계 유체를 이용한 어유의 휘발성 성분의 제거

재료 및 시약

초임계 유체를 이용한 참치 안구유로부터 휘발성성분의 제거 정도를 알아보기 위해 사용된 시료는 (주)동원산업에서 공급받은 안구유를 각 조건별 초임계 유체로 처리된 추간물을 사용하였으며, 분석에 사용된 질소와 헬륨은 순도 99.9995%이상의 초고순도 분석용 가스를 사용하였다.

참치안구유로부터의 휘발성 성분의 제거 실험

참치 안구유로부터 휘발성 성분을 제거하기 위한 초임계 이산화탄소의 온도와 압력 조건은 Table 6과 같으며, 유량은 10g/min, 반응시간은 40분으로 일정하게 유지하였다. 반응에 사용된 시료의 양은 10g으로 항상 일정하게 유지하였다. 반응은 by-pass line을 통하여 설정된 압력까지 가압하여 실험을 수행하였다.

Table 6. Conditions of SC-CO₂

No.	Temperature (°C)	Pressure (bar)	Density (g/ℓ)
1	20	60	780.73
2	20	80	826.62
3	20	120	877.60
4	20	160	911.11
5	20	200	936.90
6	30	60	171.64
7	30	80	702.06
8	30	120	809.52
9	30	160	857.69
10	30	200	891.08
11	40	80	278.41
12	40	120	719.70
13	40	160	796.37
14	40	200	841.09
15	50	80	218.92
16	50	120	587.58
17	50	160	724.35
18	50	200	786.15
19	60	80	191.39
20	60	120	435.21
21	60	160	640.20
22	60	200	725.93

휘발성 성분의 제거 정도 분석

참치안구유로부터의 휘발성 성분의 제거 정도는 GC-MSD와 Canister 시스템을 사용하여 시료의 Headspace 1 ℓ 를 GC에 injection하여 분석하였다. GC-MSD와 Canister System의 분석조건은 Table 7과 Table8에 각각 나타내었다. 본 실험에서는 Canister System의 1차 트랩과 2차 트랩의 온도를 모두 -185℃로 하여 시료를 농축하였다. 그리고 시료가 흐르는 모든 구간(라인)은 모두 200℃로 설정하여 휘발성유기화합물이나 악취물질이 부착되지 않도록 고려하였다^{31~32}. 분석된 chromatogram은 Willey229, NIST 21, NIST107 Library에 의하여 동정되었으며, 유사성 80%이하와 신빙성이 낮은 peak에 대해서는 미지의 물질로 분류하였다.

Table 7. Analytical Condition of Gas Chromatography & Mass Detector

Gas Chromatography	
Model	Shimadzu GC-17A
Control Mode	Splitless
Sampling Time	0 min
Injection Temp.	250℃
Interface Temp.	250℃
Carrier Gas / Flow	He, 1ml/min constant flow
Oven Temp.	35℃ (10min)-8℃/min→120℃ (10min)-12℃/min→180℃
Column	AT-1 (Alltech), Non-polar 100% Dimethyl Siloxane (60 m × 0.32 mm × 1 μm)
Mass Detector	
Model	GCMC - QP5050A
Acquisition Mode	Scan
Interface Temp.	250℃
Ionization energy	70eV
Mass Range	35 ~ 350 M/Z

Table 8 Analytical Conditions of Canister System

Canister System	
Model	AUTOCAN Canister Autosampler/Concentrator, Tekmar
GC Start Option	End of Desorb
GC Cycle Time	40 min
Cryo	On
Line Temp.	200°C
Valve Temp.	200°C
MCS Line Temp.	70°C
Trap Standby Temp.	100°C
Cryo Standby Temp.	200°C
MFC Standby Flow	100
Dry Purge Time	0.5 min
Dry Purge Temp.	-50°C
Dry Purge Flow	5
Desorb Preheat Temp.	270°C
Trap Desorb Time	4 min
Trap Desorb Temp.	270°C
Cryo Cool Temp.	-185°C
Cryo Inject Time	1 min
Cryo Inject Temp.	200°C
Trap Bake Time	10 min
Trap Bake Temp.	270°C
MCS Bake Temp.	270°C
MCS Cool	70°C

4. 연속식 공정을 이용한 어유의 휘발성 성분의 제거

재료 및 방법

본 실험에 사용된 참치안구유는 (주)동원산업으로부터 제공받은 참치안구유를 head space를 질소가스로 치환한 후 초저온냉동(-60°C) 보관하여 실험용 시료로 사용하였으며, 이산화탄소는 순도 99.9%의 식품용이었으며, 분석에 사용된 시약은 1급 시약이었다. 추출물의 지방산 분석은 lipid standard(fatty acid methyl ester mixture : Sigma, 189-19)를 사용하여 비교 분석하였다.

초임계 이산화탄소 연속식 장치

참치 안구유의 휘발성 성분의 제거를 위한 초임계 추출장치의 모식도는 아래의 Fig. 5와 같다. 반응조는 직경 15.5mm, 길이 300mm의 4개의 column을 연결한 것으로 상·하단에 두 개의 viewcell을 부착하여 계면의 상태를 항상 육안으로 확인 가능하게 제작하였으며, 연속식 공정으로서 항상 일정량의 시료와 초임계 유체가 반응기 내부에서 균일한 반응을 일으키도록 설계하였다. 장치 운전 방법은 포화압력 상태인 이산화탄소가 cylinder로부터 냉각기(-20℃)를 통과하여 이산화탄소 내에 존재하는 기포가 제거된 후 고압 정량 고압펌프(P-50, Thar Designs)에 의해 일정한 유량으로 유입되어 system내의 설정 압력까지 수행되어진다. 고압펌프로부터 추출탑에 유입되기 전에 추출용매로 작용하는 이산화탄소는 설정된 추출 온도에 따라 항온수조에 의해 예열 되어진 후 추출탑 내부로 공급되어졌다. 추출탑내의 온도는 thermocouple에 의해 감지되어 추출온도를 결정하였다. System내의 전체 압력은 1개의 압력 조절기와 2개의 펌프 유량 조절장치 그리고 반응물 배출장치를 부착시켜 순간 압력변화로 인한 system내의 반응 조건 변화를 방지하였으며, 고압 pump와 압력 조절기 앞에 10micron filter를 설치하여 추출이 진행되는 동안 용매 이산화탄소와 시료 중의 불순물에 의한 system의 흐름이 중단되는 것을 방지하였고, safety valve를 부착시켜 system내의 excess pressure를 제거하였다. 또한 실험 종료 후 system내의 고압으로 인한 압력의 역류로 인한 고압펌프의 손상을 방지하기 위하여 고압펌프 출구에 check valve를 설치하였다. 초임계 이산화탄소는 연속 추출탑 내의 시료로부터 저급 지방산과 약취를 유발하는 휘발성 성분을 추출하여 낮은 압력 상태로 분리기내에 유입되어 이산화탄소 및 추출물들과 쉽게 분리되었으며 이때 이산화탄소는 압력 팽창으로 용매력을 소실하여 포화압력보다 낮은 상태로 응축기를 통과하면서 액체상태의 이산화탄소가 되어 압축펌프로 유입되어 재사용 되어질 수 있다.

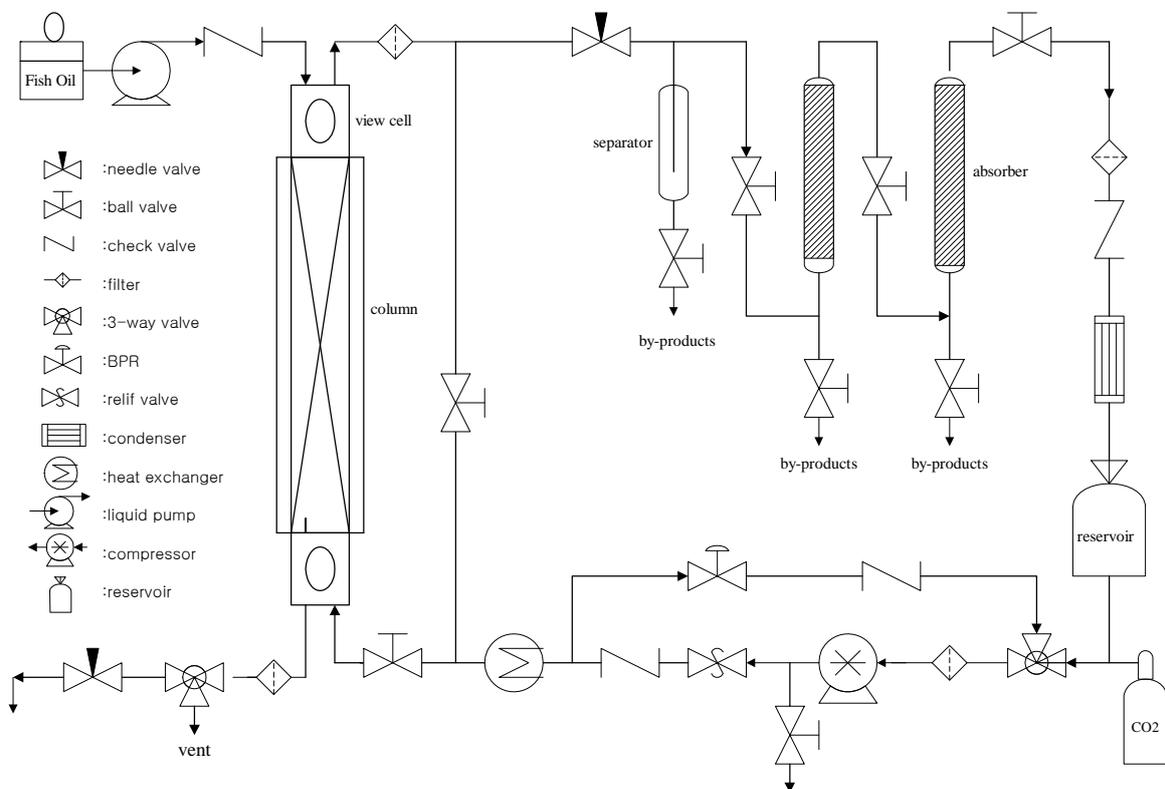


Fig. 5. Schematic diagram of Supercritical fluid process.

실험방법

연속식 장치의 실험 조건은 회분식공정 중 전체휘발성 성분의 제거가 가장 많이 이루어진 조건인 30℃, 200bar의 조건으로 이루어졌다. 초임계 이산화탄소의 유량은 10g/min으로 정량 고압펌프에 의해 일정하게 반응조 내로 유입되었다.

휘발성 성분의 측정

참치안구유로부터의 휘발성 성분의 제거 정도는 GC-MSD와 Canister 시스템을 사용하여 시료의 Headspace 1ℓ를 GC에 injection하여 분석하였다. GC-MSD와 Canister System의 분석조건은 Table 7과 Table 8에 각각 나타내었다.

5. 초임계 유체 처리 불포화지방산의 특성

재료

실험에 사용된 시료는 (주)동원으로부터 공급받은 참치 안구유와 초임계 이산화탄소로 처리된 안구유를 사용했다.

과산화물가의 측정

Hayase 등³³⁾의 방법에 따라 과산화물가(peroxide value, POV)를 측정하였다. 즉 시료 1 g에 용매(chloroform과 acetic acid를 2:3으로 혼합) 30 mL을 가하여 지방을 녹인 후 KI 포화용액 1 mL를 가하여 암소에서 5분간 방치시킨 다음 증류수 70 mL로 반응을 정지시킨 후 0.01N Na₂S₂O₃로 적정하였다.

TBARS의 측정

Sinnhuber와 Yu³⁴⁾의 방법에 따라 시료 0.5 mL에 증류수 0.5 mL과 7.2% butylated hydroxytoluene(BHT) 50 μL, 2-thiobarbituric acid (TBA)/trichloro acetic acid(TCA) 용액 2 mL을 첨가한 후 100℃에서 15분간 중탕 및 냉각하였다. 이 액을 4℃에서 3000 rpm으로 10분간 원심분리한 다음 531 nm에서 흡광도를 측정하여 TBARS(thiobarbituric acid reactive substances)함량, 즉 시료 kg당 malonaldehyde양(mg)으로 나타내었다.

점도의 측정

회전식 점도계를 이용하여 측정했다. 점도계(Visco Basic Plus rotational viscometer, FUNGILAB S.A. Spain)를 이용하여 24℃, 30rpm의 조건으로 측정했다.

색의 측정

안구유를 용기에 넣고 색차계(JC 801, Color Techno System Co., Japan)을 사용하여 L*(명도), a*(적색도), b*(황색도) 값으로 나타내었다. 이때 사용한 표준백판은 L* =93.73, a*=-0.12, b*=0.11이었다.

6. 초임계 유체 처리 어유의 가공 특성

재료

유화형 소시지를 제조하기 위해 신선한 돼지 등 지방, 뒷다리 적육을 이용했고, 유화물의 충전은 PVC film에 밀봉했다.

소시지의 물성

각각의 시료를 1.5×1.5×1 cm 크기로 자른 후 Texture meter(T-1-XT2, SMS Co., UK)로 Hardness(경도), Gumminess(점성), Chewiness(씹힘성), Springiness(탄성), Cohesiveness(응집성), Resilience(복원성), Adhesiveness(부착성), Fracturability(부서짐성)을 20mm diameter cylinder로 1.0 mm/s의 속도로 2 mm깊이로 누른 후 측정하였다. 또한 전단력(Shear force)도 나타냈다.

색도

소시지의 색은 각각의 시료를 1.5×1.5×1 cm 크기로 자르고, 내부색을 색차계(JC801, Color Techno System Co., Japan)를 사용하여 L*(명도), a*(적색도), b*(황색도) 값으로 나타내었다. 이때 사용된 표준백판은 L* = 93.73, a* = -0.12, b* = 0.11이었다.

pH

pH는 시료를 5 g씩 떼내어 10배의 증류수를 가한 뒤, 2분간 균질화 하여 pH meter(HM-30V, Toyo, Japan)로 측정하였다.

과산화물가의 측정

상기한 방법으로 과산화물가를 측정했다. 즉 시료 1 g에 용매(chloroform과 acetic acid를 2:3으로 혼합) 30 mL을 가하여 지방을 녹인 후 KI 포화용액 1 mL를 가하여 암소에서 5분간 방치시킨 다음 증류수 70 mL로 반응을 정지시킨 후 0.01N Na₂S₂O₃로 적정하였다.

TBARS의 측정

상기한 방법과 같이 측정했다. 시료 0.5 mL에 증류수 0.5 mL과 7.2% butylated hydroxytoluene(BHT) 50 μL, 2-thiobarbituric acid (TBA)/trichloro acetic acid(TCA) 용액 2 mL을 첨가한 후 100°C에서 15분간 중탕 및 냉각하였다. 이 액을 4°C에서 3000 rpm으로 10분간 원심분리한 다음 531 nm에서 흡광도를 측정하여 TBARS(thiobarbituric acid reactive substances)함량, 즉 시료 kg당 malonaldehyde양(mg)으로 나타내었다.

유화안정성

성 등의 방법을 약간 변형하여 이용했다. 즉, 소시지 제조 과정 중 생성된 유화물(Emulsion)을 각 20g씩 취하여 전용 원심관에 공기가 들어가지 않게 채워 넣고 70°C에서 30분간 가열처리 후에 10분간 냉각한 후 1,000rpm에서 10분간 원심분리 했다. 이때 분리된 수층, 지방층 및 전체층의 양을 측정하여 수분분리 비율(%)=ml 수분 ×100/시료무게, 지방분리 비율(%)=ml 지방 ×100/시료무게, 총분리(%)= (ml 수분 + ml 지방)×100/시료무게로 나타냈다.

7. 생리기능 물질의 활성 검증

재료 및 방법

혈 중 효소 활성은 alkaline phosphatase(ALP), glutamic pyruvic transaminase (GPT) 및 glutamic oxaloacetic transaminase(GOT) 측정용 Kits (Young-dong Chemical Industries, Ltd., Korea)를 사용하였다. 혈 중 cholesterol, HDL-cholesterol 및 triglyceride 함량 측정은 Kits (Young-dong Chemical Industries, Ltd.)를 사용하였다.

실험동물

실험동물은 체중이 평균 197g 되는 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 효창사이언스(대구)로부터 구입하여 본 실험실에서 고형사료(삼양유지사료)로 사육하였고, 실험 시작 전 1주일 동안 대조군 식이로 적응시킨 후 동물의 체중에 따라 각 군의 평균 체중이 비슷해지도록 7~8마리씩 6군[난소절제 대조군(control), 비 난소절제 대조군(sham), 어류추출물A의 원액 5 mg/kg, 원액 20mg/kg, 반응물 5mg/kg, 반응물 20mg/kg]으로 나누어 7주간 실험하였다. 체중은 이틀에 한번씩 측정하였다. 동물실험실의 사육조건은 온도 24±2℃, 습도 55~60%를 유지시키며 실험 식이와 물은 자유 급여하였다. 실험 시료는 corn oil로 용해하여 매일 1ml씩 경구 투여하였고, 대조군(control, sham)은 동일용량의 corn oil을 매일 경구 투여하였다.

난소절제시술

1주일동안 주위환경에 적응시켜 체중에 따라 난괴법(Randomized Complete Block Design)에 의해 군을 나누어 난소절제 시술을 하였다. 수술은 Ethyl Ether로 마취 후 심 마취기에 이르면 복부를 절개하여 난소를 제거하고 절개부는 봉합하였다.

혈청분리

실험 종료 후 실험동물은 Ethyl ether 마취 하에서 개복 한 후 정맥에서 채혈하여 실온에서 30분간 방치 한 후 3000×g, 4℃에서 10분간 원심분리에 의해 혈청을 분리하였고, 실험 시까지 -70℃에 보관하였다.

분석 시료의 조제 및 분석 방법

분리한 혈청의 ALP 활성은 Kind-King의 개량법³⁵⁾에 준하여 Fig. 6에 나타난 방법으로 시료를 조제한 후 UV-spectrophotometer를 이용하여 500nm에서 흡광도를 측정하였고, GPT와 GOT 활성은 Reitman-Frankel법³⁶⁾으로 측정하였고, 총 Cholesterol, TG 및 HDL-cholesterol 농도는 Kits를 사용하여 Fig 7, 8 및 9의 방법에 의해 효소비색법(Enzymatic Colorimetric Method)으로 분석하였다.

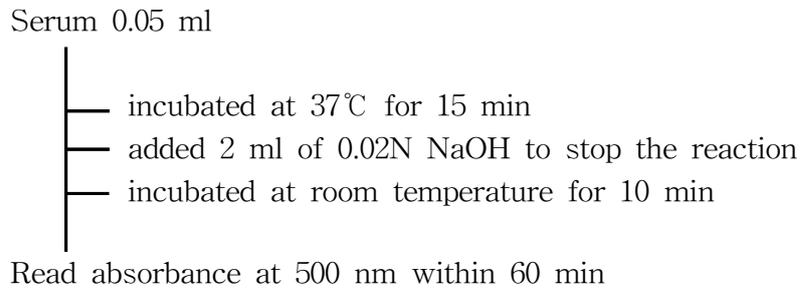


Fig. 6. Determination of serum alkaline phosphatase activity.

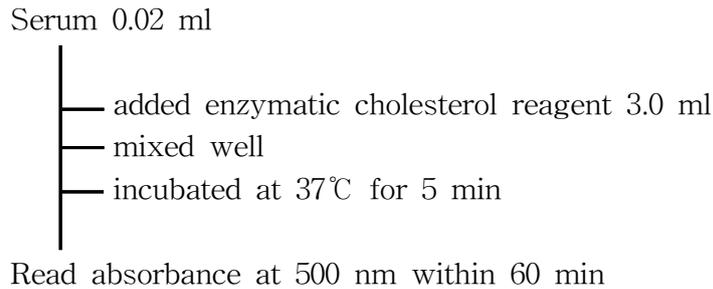


Fig. 7. Determination of cholesterol in serum.

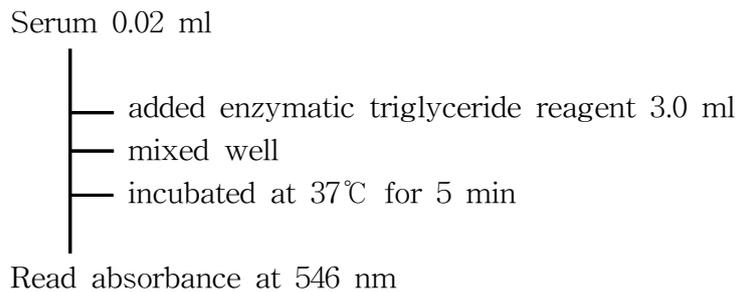


Fig. 8. Determination of triglyceride in serum.

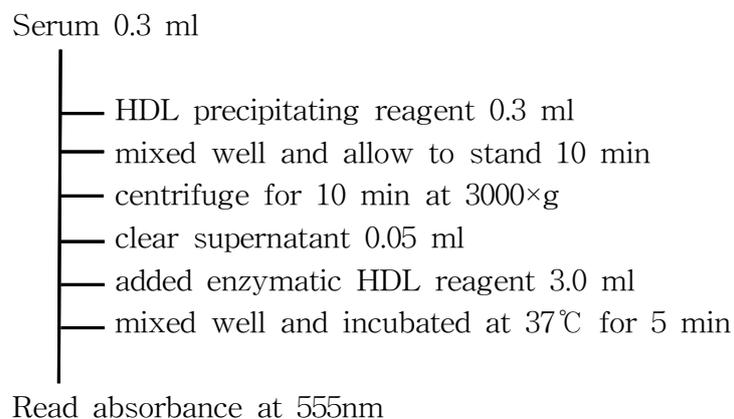


Fig. 9. Determination of HDL-cholesterol in serum.

통계 처리

본 연구에 대한 모든 실험 결과는 평균치와 표준편차로 나타내었고, 통계적 유의성은 student's t-test를 이용하여 상호 비교하였다.

제 4 장 결과 및 고찰

제 1 절 오징어 내장유를 이용한 고도불포화 지방산의 정제

초임계 이산화탄소를 이용한 추출 조건

본 실험은 추출 압력 8.3MPa에서 13.8MPa까지 그리고 추출 온도 25°C에서 50°C까지의 범위에서 이산화탄소의 유속은 40ml/min으로 오징어 내장유의 초임계 CO₂ 추출이 이루어졌다. 또한, 이 범위에서 entrainer로서의 2%(v/v)에탄올을 첨가했을 때의 추출과 첨가하지 않았을 때의 추출을 비교하였다.

온도변화에 따른 추출

Fig. 10은 압력 10.3MPa 과 12.4MPa에서 CO₂유량 40ml/min으로 1시간 동안 추출하였을 때 온도의 변화에 따라 추출된 oil양과 entrainer로서의 에탄올을 1ml/min으로 CO₂와 함께 흘려 보냈을 때 추출된 oil의 양을 측정하여 나타내었다. 압력 12.4MPa, 온도 40°C에서 밀도가 0.73g/cm³이며 추출량은 1.48g으로 가장 높은 추출량을 나타냈으며, 압력 10.3MPa, 온도 50°C에서 밀도가 0.52g/cm³이며 추출량은 0.43g으로 가장 낮은 추출을 나타내고 있다. 10.3MPa에서는 12.4MPa 보다 더 낮은 추출량을 보였고, 온도가 증가할수록 추출량은 비례적으로 감소하였다. 에탄올을 흘려 보냈을 때도 역시 12.4MPa에서의 더 높은 추출율을 보이고 있다. Entrainer로서의 에탄올을 흘려 보냈을 때에는 압력 12.4 MPa, 온도 40°C에서 4.85g으로 가장 많은 양이 추출되었다. 에탄올을 1ml/min으로 CO₂와 함께 흘려 보냈을 때의 추출에서는 에탄올을 첨가하지 않았을 때의 추출량보다는 월등히 높은 양을 나타낸다. Entrainer로서의 2%(v/v)에탄올을 첨가했을 때 더 높은 추출량을 나타내는 것은 CO₂는 비극성 물질만을 선택적으로 이끌어 내는 반면 에탄올은 극성과 중성지질까지 이끌어 내기 때문이다.

Hardardottir and Kinsella⁴³⁾ 78%의 지질과 97%의 콜레스테롤의 제거가 이루어진 무지개 송어로부터 oil과 콜레스테롤의 초임계 CO₂추출을 보고했는데 entrainer로서의 10%(v/v) 에탄올을 첨가한 지질과 콜레스테롤 회수는 각각 97~98%까지 증가했으나 에탄올 첨가는 극성지질의 공 추출을 가져오며 또한 지질을 추출하기 위해 유기용매를 사용하는 것은 단백질 변성을 가져온다고 보고했다.

이전에 보고된 문헌에서도 이와 비슷한 결과를 볼 수 있다⁴⁴⁾. 또한, 첨가되는 에탄올 양이 증가될수록 oil용해도도 증가된다고 보고되어지고 있다.

압력변화에 따른 추출

Fig. 11은 온도 30°C와 50°C에서 CO₂유량 40ml/min으로 1시간 동안 추출하였을 때 entrainer로서의 2%(v/v)에탄올을 1ml/min으로 첨가했을 때와 첨가하지 않았을 때 각 압력에 따른 추출량을 나타낸 것이다. 30°C에서 추출된 것이 50°C에서 추출된 것 보다 높게 나타났다. 이러한 결과는 여러 문헌들에서 나타난 결과와 비슷한 경향을 나타내고 있다⁴³⁻⁴⁶⁾.

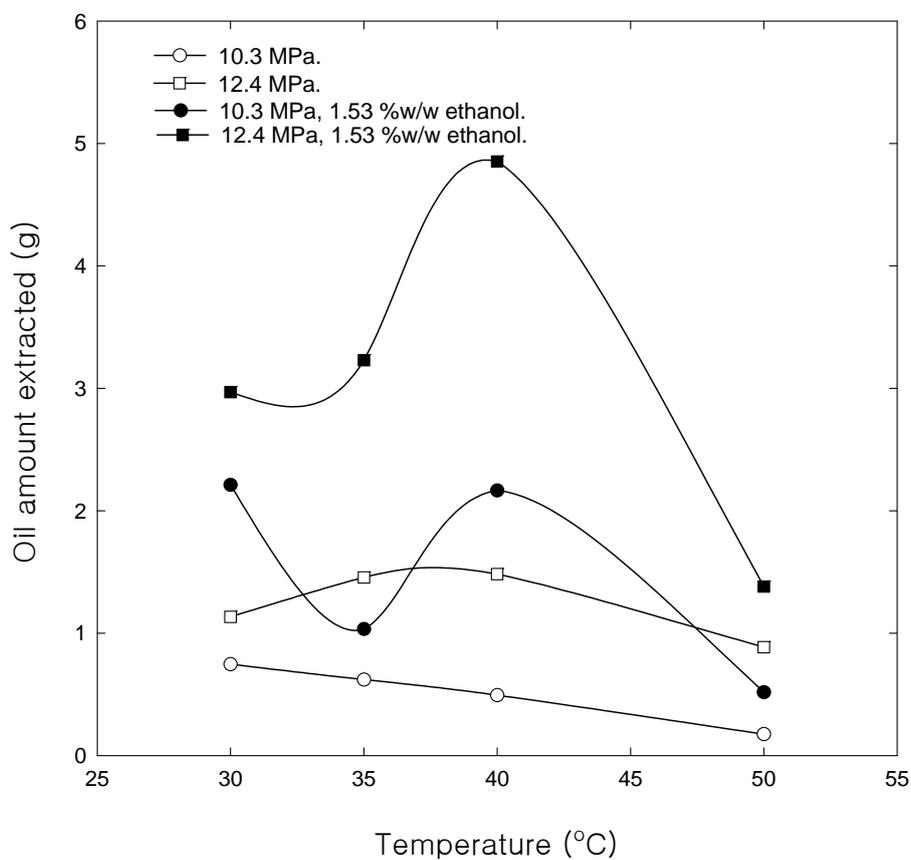


Fig. 10. Extraction of fatty acids from squid viscera oil by supercritical CO₂ with and without ethanol at different temperatures and pressures. Extraction time : 60min, CO₂ flow rate : 40ml/min

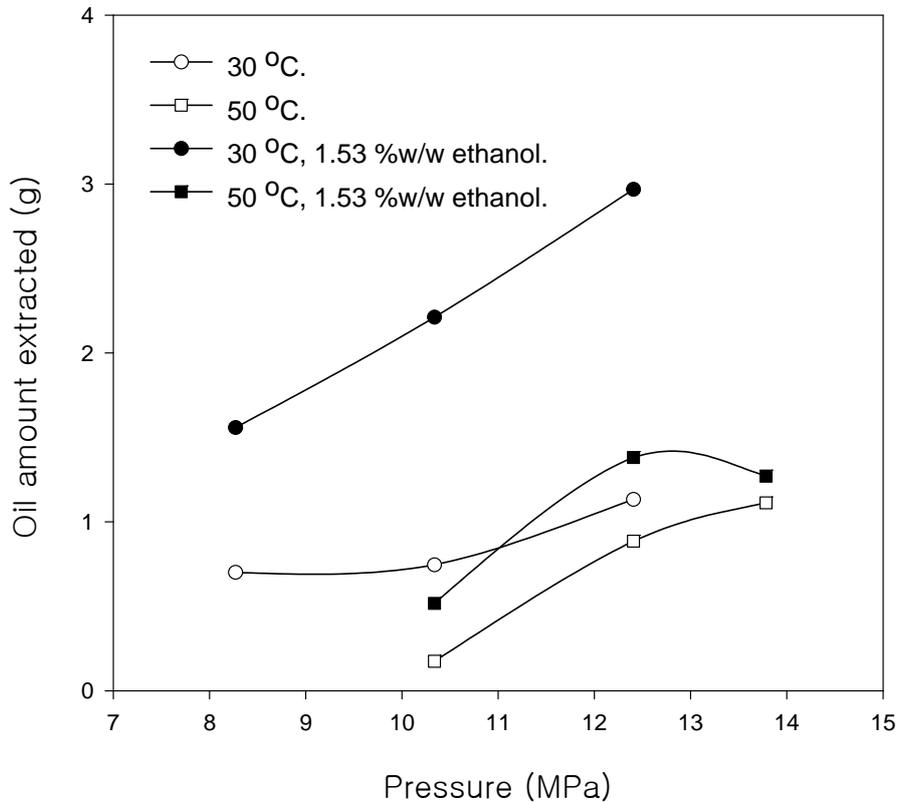


Fig. 11. Extraction of fatty acids from squid viscera oil by supercritical CO₂ with and without ethanol at different temperatures and pressures. Extraction time : 60min, CO₂ flow rate : 40ml/min.

에탄올을 첨가하지 않았을 때는 압력 12.4MPa, 온도 30°C에서 밀도가 0.82g/cm³이며 추출량이 1.13g으로 가장 높게 나타내었으며 압력 10.3MPa, 온도 50°C에서는 밀도가 0.43g/cm³이며 0.17g으로 가장 낮은 추출량을 나타내었다.

또한, 에탄올을 첨가하였을 때는 압력 12.4MPa, 온도 30°C에서 추출물량이 2.97g으로 가장 많이 추출되었으며, 압력이 10.3MPa, 온도 50°C에서 추출물은 0.52g으로 가장 낮은 추출을 보이고 있다.

추출시간에 따른 추출

Fig. 12는 추출압력 12.4MPa에서 추출 온도 35°C 와 50°C에서 CO₂유속 45ml/min으로 추출 시간에 따른 지방산의 추출 속도를 나타낸 것으로 Fig. 11에서와 마찬가지로 50°C보다 더 낮은 온도인 35°C의 조건에서 빠른 추출 속도를 나타내고 있다.

Fig. 13은 추출시간에 따른 추출 회수율을 나타낸 것이다. Fig. 13의 linear한 곡선은 용

매의 물질전달이 용해도에 의해 제한됨을 나타낸다. Fig. 13에 나타난 조건 중 압력 17.2MPa, 온도 45°C에서 에탄올을 첨가했을 때와 첨가하지 않았을 때 가장 높은 회수율을 나타내었다. Entrainer로서의 에탄올을 첨가했을 때의 잇점은 용매추출 했을 때와 비슷한 회수율을 나타낸다는 것이다.

추출물에 대한 용해도

초임계 이산화탄소에 의한 오징어 내장유의 추출 평형실험을 수행한 결과 Fig. 13과 같은 추출곡선이 얻어졌다. 오징어 내장유의 추출속도는 초기에는 일정하였으나 추출이 진행됨에 따라 감소하였다. 이러한 현상은 추출 초기에는 휘발성이 양호한 분자량이 작은 지방산 ester들이 먼저 추출되며 분자량이 큰 지방산 ester들은 상대적으로 휘발성이 약하여 초임계 이산화탄소에 의한 추출이 늦어지기 때문에 나타난 결과이다. 이러한 현상은 Table 9와 10에서 보면 탄소수가 14 또는 16인 지방산 ester는 추출이 진행됨에 따라 그 성분비가 줄어들고 있는 반면에 EPA나 DHA와 같은 분자량이 큰 물질들은 그 성분비가 증가하는 것을 알 수 있다. 이러한 현상은 그 정도에 다소 차이는 있으나 추출조건에 무관하게 공통적으로 나타나고 있다.

용해도는 용매의 밀도와 용질의 휘발성과 밀접한 관계를 가지고 있다. 즉 용매 밀도의 증가는 추출상의 용질 분자가 용매분자와 작용할 확률을 증가시켜 용해도를 증가시킨다. 반면에 압력의 증가에 의한 용질의 휘발성의 증가는 용질이 응축상으로 부터 탈출하려는 경향을 증가시켜 용해도를 증가시킨다. 바꾸어 말하면 Fig. 11에 나타낸 8.3~13.8MPa의 압력에서는 일정온도에서 압력이 증가함에 따라 용매밀도의 증가와 용질의 휘발성 증가로 용해도가 증가하였다⁴⁷⁾.

오징어 내장유는 본 실험의 압력과 온도 범위 중 압력 12.4MPa 과 온도 40°C에서 밀도는 0.73g/cm³로 1.48g oil/kg CO₂ 의 가장 높은 용해도를 나타냈으며 entrainer로서의 2%(v/v) 에탄올을 첨가했을 때는 압력 12.4MPa 과 온도40°C, 밀도 0.73g/cm³에서 4.85g oil/kg CO₂ 로 가장 높게 나타났다.

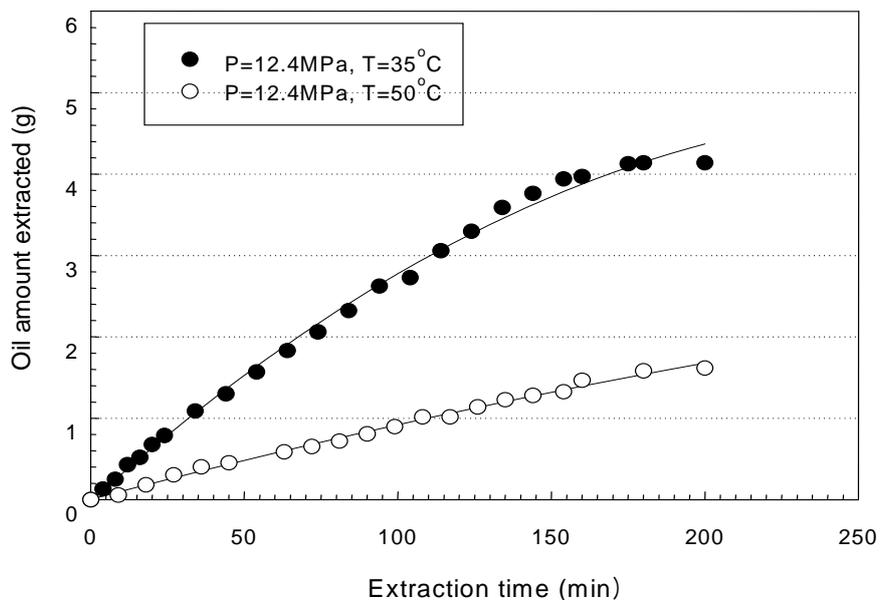


Fig. 12. Extraction curves for the squid viscera oil using carbon dioxide solvent, both with and without ethanol, at 13.8MPa and 45°C, Oil charged:3g.

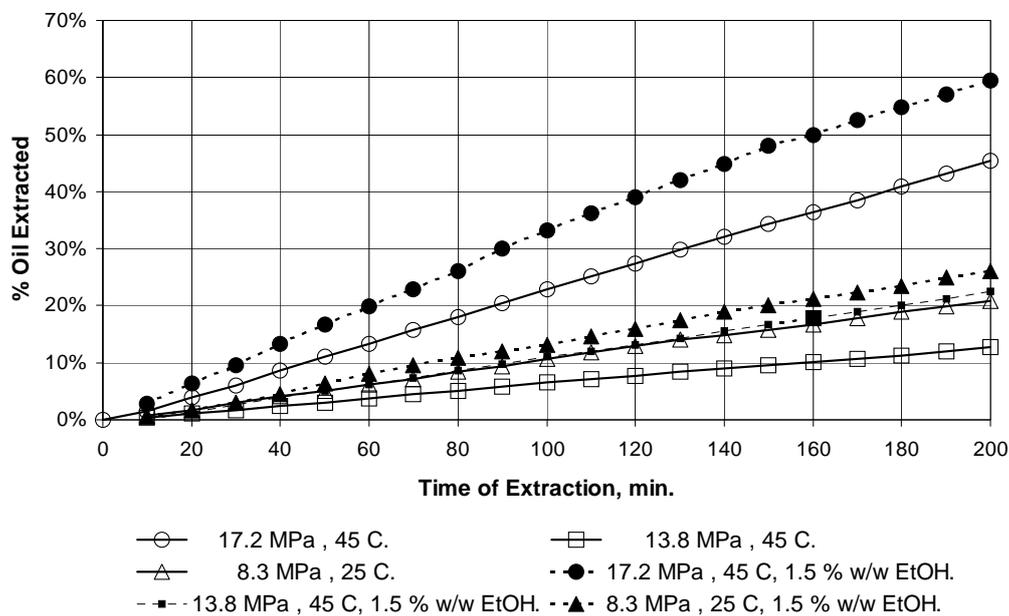


Fig. 13. Extraction rate curves for crude squid viscera oil. Open symbols: filled symbols: CO₂ with 2% w/w ethanol entrainer.

Table 9. Fatty acid oil compositions (% mass) of squid viscera oil extracted by liquid carbon dioxide at 8.3MPa, 25°C

Fatty acid	Extraction time (min)	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
C14:0		7.16	7.29	6.20	7.29	6.78	7.19	6.73	6.77	6.82	6.71
C16:0		23.28	23.41	21.89	23.10	22.47	22.82	22.84	22.31	22.25	22.04
C16:1		6.61	6.70	6.28	6.77	6.47	6.67	6.61	6.40	6.37	6.35
C18:1		16.21	16.03	16.23	16.32	16.08	15.69	16.52	15.84	15.87	15.65
C20:0		7.15	6.96	7.44	6.86	7.17	6.85	4.73	7.17	7.19	7.29
C20:5		15.96	16.06	17.06	16.04	16.44	16.45	16.94	16.34	16.30	16.54
C22:6		23.73	23.55	26.12	23.60	24.59	24.31	25.63	25.44	25.20	25.40
Fatty acid	Extraction time (min)	110	120	130	140	150	160	170	180	190	200
C14:0		6.59	7.29	7.08	6.66	6.43	6.44	6.38	6.72	6.57	6.52
C16:0		22.10	23.58	22.43	22.31	22.31	22.22	21.65	22.86	22.22	22.20
C16:1		6.27	6.74	6.61	6.33	6.19	6.22	6.10	6.43	6.26	6.22
C18:1		15.94	16.47	15.58	15.94	16.0	15.89	15.59	16.05	16.07	15.53
C20:0		7.34	7.44	4.61	7.40	7.61	7.39	7.52	7.34	7.47	7.31
C20:5		16.37	17.05	17.28	16.16	16.02	16.24	16.33	16.01	16.03	16.26
C22:6		25.40	26.14	26.40	25.19	25.44	25.61	26.43	24.59	25.38	25.96

Table 10. Fatty acid oil compositions (% mass) of squid viscera oil extracted by Supercritical carbon dioxide at 17.2MPa, 45°C

Fatty Acid	Extraction time (min)	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
C14:0	myristic	7.72	6.94	7.15	6.43	6.43	5.95	5.84	5.66	5.52	5.91
C16:0	palmitic	25.25	22.87	23.21	22.39	22.49	21.60	21.47	21.58	21.34	22.09
C16:1	palmitoleic	7.31	6.57	6.63	6.20	6.21	5.99	5.90	5.76	5.85	5.97
C18:1	oleic	18.02	16.42	16.40	16.31	16.27	16.18	15.99	16.17	16.50	16.23
C20:0	arachidic	5.03	4.88	4.87	7.61	7.58	7.72	7.73	5.11	5.29	7.88
C20:5	EPA	18.12	16.69	16.46	15.93	15.89	16.41	16.41	17.39	17.15	16.02
C22:6	DHA	27.15	25.63	25.28	25.14	25.13	26.14	26.64	28.32	28.32	25.90
Fatty Acid	Extraction time (min)	110	120	130	140	150	160	170	180	190	200
C14:0	myristic	6.35	5.59	5.89	6.01	5.94	5.51	5.23	6.09	5.35	5.24
C16:0	palmitic	22.62	21.65	22.10	22.72	22.52	21.68	21.11	22.87	21.81	21.47
C16:1	palmitoleic	6.15	5.77	5.88	6.05	6.03	5.74	5.61	6.07	5.73	5.62
C18:1	oleic	16.36	16.21	16.16	16.49	16.35	16.01	16.23	16.49	16.25	16.32
C20:0	arachidic	5.20	8.14	8.01	5.28	5.33	7.97	8.34	7.89	8.18	8.37
C20:5	EPA	16.38	15.99	15.71	16.30	16.43	15.85	16.14	15.60	15.93	16.03
C22:6	DHA	26.94	26.64	26.25	27.14	27.41	27.24	27.35	24.99	26.75	26.95

제 2 절 참치 안구유를 이용한 고도불포화지방산의 정제

참치안구유 정제실험 결과 및 고찰

참치 안구로부터 추출된 지질추출물의 지방산은 Fig. 14과 Table 11에 GC 분석결과를 나타내었다. 고도불포화 지방산인 Docosahexaenoic acid (C_{22:6})의 함량이 26.93%로 가장 많았으며, Eicosapentaenoic acid (C_{20:5})는 8.52%의 함량을 보였다. 불포화 지방산과 포화 지방산의 비율은 약 2:3정도로 나타났다.

Fig. 15는 압력과 온도의 변화에 따른 추출물과 추잔물 중의 DHA 함량을 나타내었으며, Fig13에 Chromatogram을 나타내었다. 추출시간은 60분으로 동일하였다. 온도 40℃, 압력 140bar의 조건에서 DHA의 함량이 32.7%로 가장 높게 나타났으며, 이는 초기함량 26%대비 약 25.7%의 함량의 증가를 가져왔다.

Table 11 Fatty acid composition(%) of Tuna oil

Compounds	Composition(%)
Butyric acid (C _{4:0})	7.62
Caprylic acid (C _{8:0})	1.53
Capric acid (C _{10:0})	0.85
Myristic acid (C _{14:0})	4.51
Pentadecanoic acid (C _{15:0})	1.45
Palmitic acid (C _{16:0})	22.34
Palmitoleic acid (C _{14:1})	6.90
cis-10-heptadecanoic acid (C _{17:1})	0.96
Stearic acid (C _{18:0})	4.51
Oleic acid (C _{18:1})	9.41
Elaidic acid (C _{18:1,trans-9})	0.71
cis-11,14-Eicosadienoic acid (C _{20:2})	2.85
cis-5,8,11,14,17-Eicosapentaenoic acid (C _{20:5})	8.52
Eruic acid (C _{22:1})	0.92
cis-4,7,10,13,16,19-Docosahexaenoic acid (C _{22:6})	26.93
Total	100.00

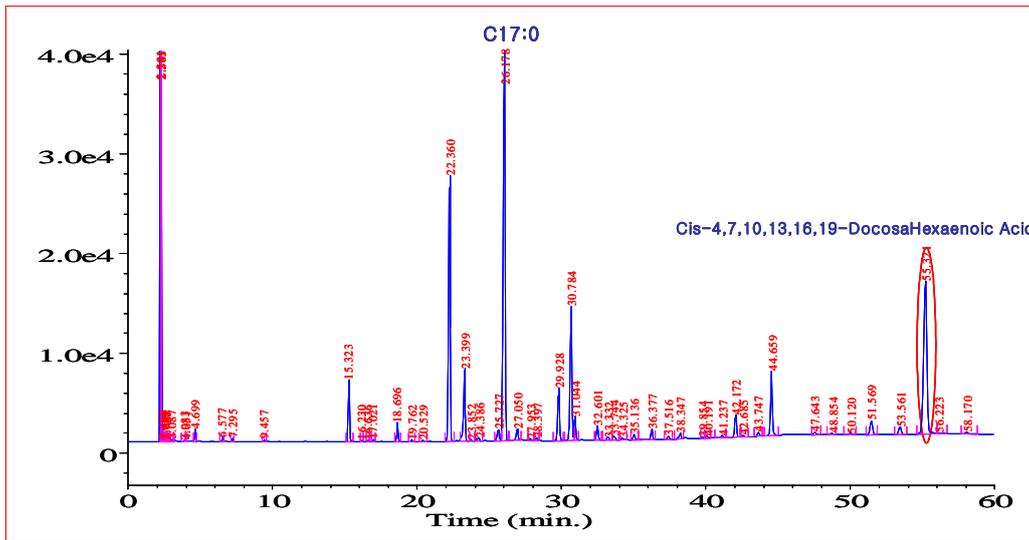
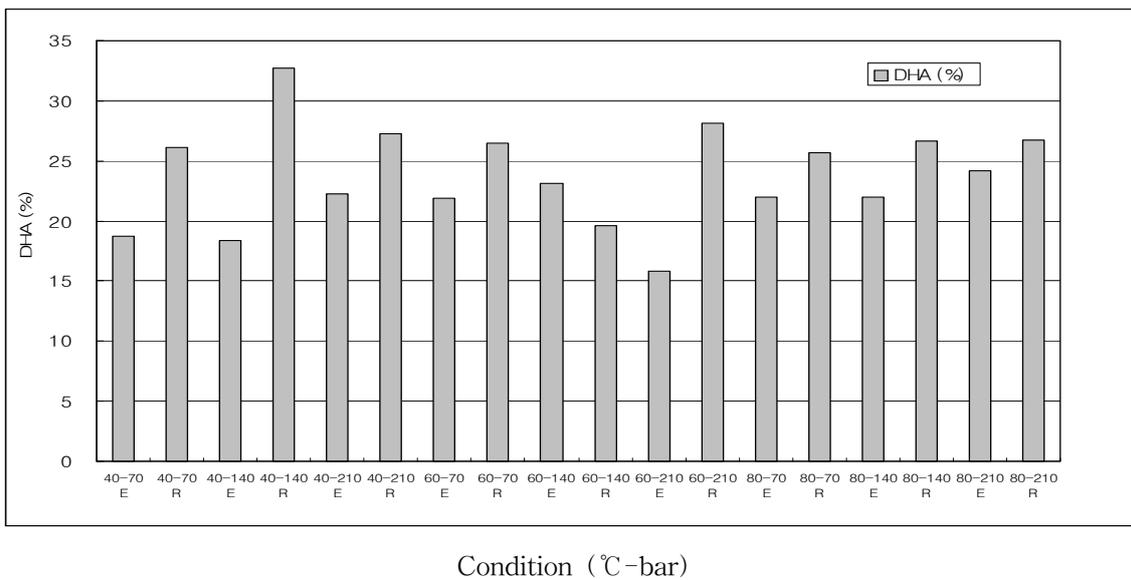


Fig. 14. Gas chromatogram of fatty acid methyl esters of tuna oil.



(E: extract, R: raffinate)

Fig. 15. Comparison of DHA content(%) in extract and raffinate after supercritical carbon dioxide extraction with different conditions.

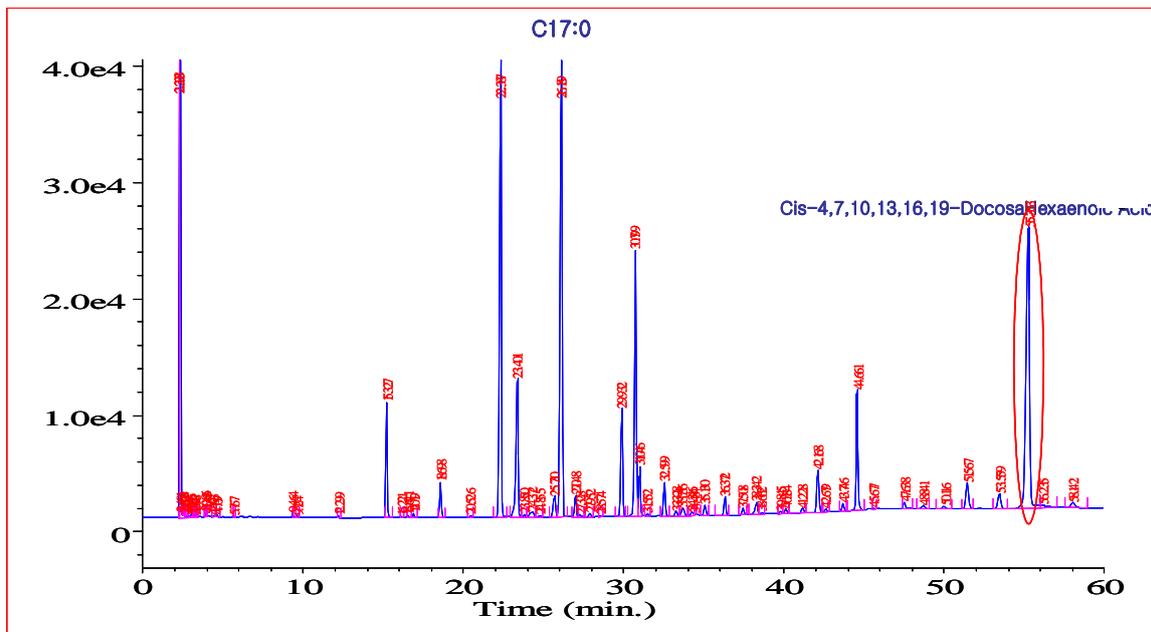


Fig. 16. Gas chromatogram of fatty acid methyl esters of tuna oil treated by Supercritical Carbon Dioxide.(40°C, 140bar)

제 3 절 초임계 유체를 이용한 어유의 휘발성 성분의 제거

원시료의 휘발성 성분

분석결과 원시료의 휘발성 성분의 Major Peak는 2-Methyl -1-propanol, 2,4-Hexadienal, n-Hexane, Cyclopropane, 1,7-Octadiene, 2,5-Octadiene, 3-Octyne, 3,5-Octadiene으로 나타났으며, 130여 개의 peak가 검출되었다. 동정된 휘발성 물질들은 Rossana R.등³⁵⁾과 Cha등³⁶⁾의 결과와 일부 일치하였다. 원시료의 휘발성성분과 Chromatogram은 Table 12.과 Fig. 17에 나타내었다. 분석된 물질은 Willey229, NIST107, NIST21 Library를 사용하여 MSD scan mode로 동정하였으며, 유사성이 80%이하로 낮은 물질과 물질의 특성을 파악하여 신빙성이 낮은 물질은 동정은 가능하였으나, 미지의 물질로 분류하였다.

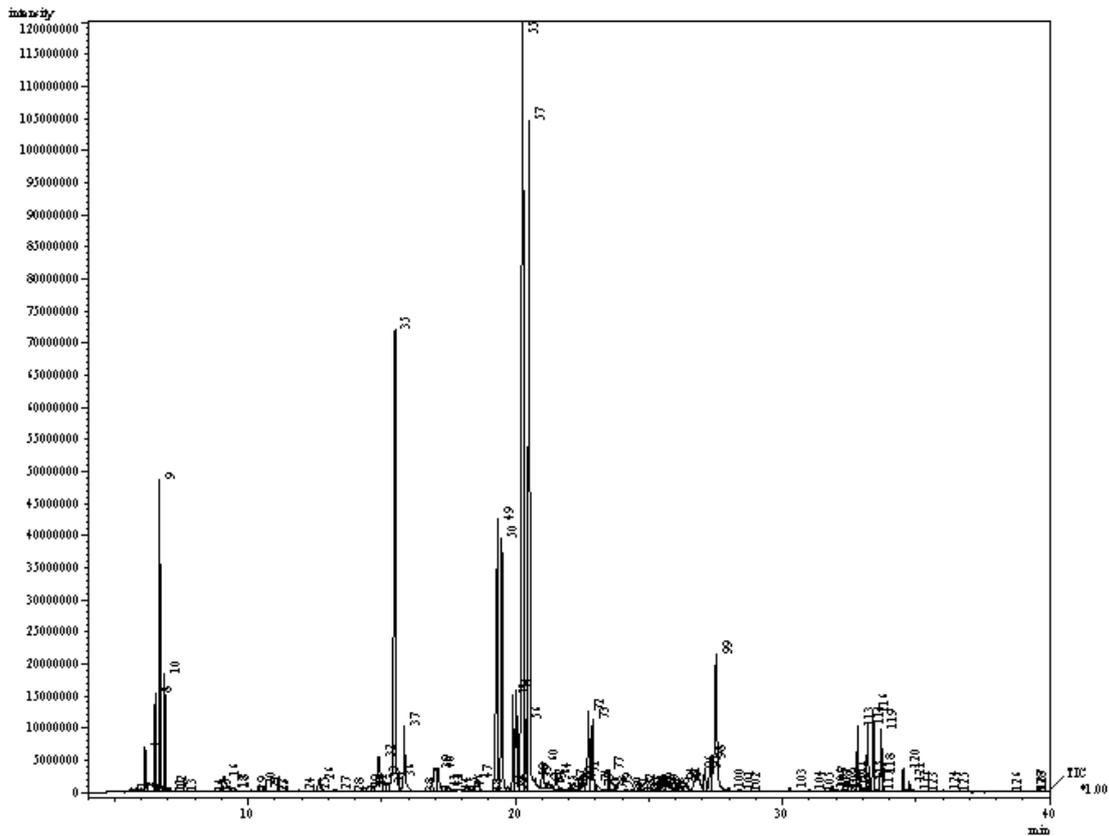


Fig. 17. Chromatogram of volatile compounds in fish oil.

Table 12 Volatile Compounds in Fish Oil

No.	R. T.	Compound	Major M/Z	Area	Area %
1	5.625	2-Propenal	56	1789945	0.296
2	5.858	Propanal	58	826769	0.137
3	5.994	Unknown	35	276292	0.046
4	6.150	1-Pentene	42	4330914	0.716
5	6.300	2-Butene-1,4-diol,(Z)-	42	3913104	0.647
6	6.358	Unknown	43	10581010	1.748
7	6.408	Unknown	43	10776968	1.781
8	6.525	1-Propanol, 2-methyl-	43	10627171	1.756
9	6.692	2-Butene, 2-methyl-	55	29703510	4.908
10	6.883	Cyclopropane, 1,1-dimethyl-	55	12918384	2.134
11	7.017	1-Butene, 2-methyl-	55	12918394	2.134
12	7.083	1,3-Pentadiene, (E)-	39	315864	0.052
13	7.450	1,3-Pentadiene, (Z)-	39	291832	0.048
14	8.550	Cyclopropane, ethyl-	42	81411	0.013
15	8.775	Pentane, 2-methyl-	43	115110	0.019
16	9.100	Butanal	44	2763451	0.457
17	9.392	Unknown	43	2272290	0.375
18	9.450	1-Butanol, 2-methyl-	41	106183	0.018
19	10.117	Furan, 2-methyl-	82	175058	0.029
20	10.408	Hexane	41	858211	0.142
21	10.600	Unknown	35	750566	0.124
22	10.842	Ethyl Acetate	43	516420	0.085
23	10.917	Unknown	42	44281	0.007
24	11.908	1-Pentene, 2-methyl-	41	270595	0.045
25	12.475	Butanal, 3-hydroxy-	43	222849	0.037
26	12.675	Butanal, 3-methyl-	41	1526186	0.252
27	13.283	1,5-Hexadiyne	78	328859	0.054
28	13.783	1-Hexene	41	152565	0.025
29	14.350	1-Pentene-3-one	55	1113737	0.184
30	14.533	2-Butanone, 3-methyl	43	1027069	0.170
31	14.608	hexyl formate	56	4615	0.001
32	14.900	Pentanal	44	8382502	1.385
33	15.033	3-Pentanone	57	2432371	0.402
34	15.258	Unknown	57	194049	0.032
35	15.508	2,4 Hexadienal	81	68026000	11.240
36	15.642	Cyclohexanol, 4-methyl-	57	652473	0.108
37	15.858	Heptane	41	7334579	1.212
38	16.400	3-Methylpyridazine	94	81586	0.013
39	17.008	2-Methyl, 2-butenal	55	5653118	0.934
40	17.108	Disulfide, dimethyl	45	1958587	0.324
41	17.325	2-Hexanal	55	285664	0.047
42	17.417	Unknown	55	43825	0.007
43	17.458	Unknown	55	57561	0.010

Table 12 (Continued)

No.	R. T.	Compound	Major M/Z	Area	Area %
44	17.767	Unknown	55	107304	0.018
45	18.067	Unknown	39	47557	0.008
46	18.275	1,3,5-Cycloheptatriene	91	649657	0.107
47	18.550	Pentane, 1-nitro-	43	5065161	0.837
48	18.942	Unknown	43	125198	0.021
49	19.350	n-Hexanal	41	35770748	5.910
50	19.500	Cyclopropane	41	36694891	6.063
51	19.717	1,7-Octadiene	41	36421982	6.018
52	19.825	Cyclohexanol, 2-methyl-	67	279101	0.046
53	19.917	Octane	43	11960207	1.976
54	20.042	2-Octene	41	12539842	2.072
55	20.292	2,5-Octadiene	67	62523895	10.331
56	20.392	3-Octene	41	4900721	0.810
57	20.533	3-Octyne	39	44431055	7.341
58	20.650	3,5-Octadiene	39	44277048	7.316
59	20.767	Heptane, 2,4-dimethyl	43	613899	0.101
60	21.033	2,4-Hexadien-1-ol	39	2957185	0.489
61	21.158	Cyclopentane, 1-ethyl-2methyl-	55	1624764	0.268
62	21.267	1,4-Heptadiene, 3-methyl-	39	209245	0.035
63	21.350	1-Heptene, 4-methyl-	43	183519	0.030
64	21.508	1-Decyne	41	1504965	0.249
65	21.750	Ethylbenzene	91	429633	0.071
66	21.950	Unknown	43	421780	0.070
67	22.075	1,3-cyclopentadiene,5-(1-methylethylidene)	91	1258551	0.208
68	22.183	Hexane, 2,3,4-trimethyl-	43	194867	0.032
69	22.375	1,3,6-Octatriene	79	900404	0.149
70	22.433	1-Octene-4-yne	79	900404	0.149
71	22.542	2-Heptanone	43	4920664	0.813
72	22.750	4-Heptenal, (Z)	41	7840385	1.295
73	22.908	Heptanal	41	5287647	0.874
74	22.975	Benzene, 1,2-dimethyl-	91	476540	0.079
75	23.092	2-Pentenal, 2-ethyl-	41	5266037	0.870
76	23.317	Unknown	39	134593	0.022
77	23.500	Nonane	43	2198196	0.363
78	23.608	Unknown	39	13490	0.002
79	23.758	Phenol, 3-ethyl-	107	692772	0.114
80	24.125	Unknown	55	249541	0.041
81	24.400	Unknown	39	168616	0.028
82	24.650	Butyraldehyde, 4-(methylenecyclopropyl)-	79	332471	0.055
83	24.800	Cyclopropane,(3-chloropropyl)methylene-	79	51883	0.009
84	25.017	2-Octenal, (E)-	41	464246	0.077
85	25.075	Unknown	40	529	0.000
86	25.133	Unknown	43	106122	0.018

Table 12 (Continued)

No.	Retention Time	Compound	Major M/Z	Area	Area %
87	25.275	Unknown	54	229518	0.038
88	25.342	Unknown	50	1606	0.000
89	25.392	1-Nonyne	41	64931	0.011
90	25.492	Unknown	41	99550	0.016
91	25.583	3-Nonyn-2-ol	38	4038	0.001
92	25.767	Unknown	41	42980	0.007
93	25.917	Dimethyl trisulfide	45	122982	0.020
94	26.158	2,3-Octanedione	43	3793452	0.627
95	26.383	1-Nonen-3-ol	57	927900	0.153
96	26.842	2,4-Heptadienal	81	6551385	1.082
97	27.100	Furan, 2-pentyl-	81	4520937	0.747
98	27.317	Octanal	41	3366607	0.556
99	27.517	2,5-Cyclooctadien-1-one	39	14558213	2.405
100	27.992	Decane	43	521637	0.086
101	28.367	3-Nonyn-2-ol	43	95201	0.016
102	28.583	Unknown	44	58203	0.010
103	30.283	2-Nonenal, (E)-	39	478477	0.079
104	31.000	3,5-Octadien-2-one, (E,E)-	43	274430	0.045
105	31.342	1-Undecene	41	83865	0.014
106	31.808	3-Decyn-2-ol	43	75780	0.013
107	31.850	Diallylsulfone	41	333572	0.055
108	32.058	2-Butanone,4-(5-methyl-2furanyl)	43	61235	0.010
109	32.267	2-Nonanone	43	670231	0.111
110	32.400	1,4-Hepatiene,3,3,6,-trimethyl	41	188190	0.031
111	32.517	E-1,5,9-Decatriene	41	1257252	0.208
112	32.617	Unknown	67	44187	0.007
113	32.817	10-Undecine-1-ol	41	4579557	0.757
114	33.200	1-Undecyne-3-yne	79	3844286	0.635
115	33.275	3-Undecyne	67	562595	0.093
116	33.408	Cyclohexene, 3-methyl-1-butenyl-	79	5989267	0.990
117	33.542	Unknown	81	12467	0.002
118	33.617	Unknown	67	685585	0.113
119	33.700	3-Undecen-5-yne	79	3949742	0.653
120	34.525	trans-2-cis-6-Nonadienal	41	2729498	0.451
121	34.758	tert-Dodecanethiol	41	917462	0.152
122	34.900	Unknown	105	65921	0.011
123	35.200	1-Undecene	41	81081	0.013
124	36.017	1,3-Dimethyl-2-methylene-cyclopentyl-methanol	39	135267	0.022
125	36.425	Unknown	41	78660	0.013
126	38.367	2-Decanal	41	87669	0.014
127	39.625	Unknown	43	462644	0.076
128	39.900	Unknown	39	60468	0.010
129	40.075	3-Tridecene	41	301643	0.050
130	40.508	Tridecane,4-methyl	43	352016	0.058
Total				592336333	100

동정된 휘발성 성분들중 Dimethyl disulfide를 비롯하여 2-Methyl-1-butanol, Ethylbenzene 등의 강한 악취성분과 휘발유 냄새를 유발하는 Hexane, Octane 등의 Alkane류등 모두 17종의 악취 유발성분이 검출되었으며, 이들이 전체 휘발성성분들 중에 차지하는 비율은 20%이상으로 나타났다. 악취 유발성분들은 Table 13에 나타내었다.

Table 13 Odor components of fish oil

No.	R. T.	Compound	Major M/Z	Odor Description
1	5.625	2-Propenal	56	자극성악취
2	5.858	Propanal	58	자극적인냄새
4	6.150	1-Pentene	42	불쾌한냄새
9	6.692	2-Butene, 2-methyl-	55	불쾌한냄새
11	7.017	1-Butene, 2-methyl-	55	불쾌한냄새
15	8.775	Pentane, 2-methyl-	43	석유냄새
16	9.100	Butanal	44	이상한악취
18	9.450	1-Butanol, 2-methyl-	41	강한악취
20	10.408	Hexane	41	휘발유냄새
25	12.475	Butanal, 3-hydroxy-	43	자극성악취
32	14.900	Pentanal	44	자극성악취
37	15.858	Heptane	41	휘발유냄새
40	17.108	Disulfide, dimethyl	45	자극적인냄새
46	18.275	1,3,5-Cycloheptatriene	91	이상한악취
49	19.350	n-Hexanal	41	자극적인냄새
53	19.917	Octane	43	휘발유냄새
65	21.750	Ethylbenzene	91	이상한악취

초임계 처리 안구유의 휘발성 성분

초임계 이산화탄소를 이용한 참치 안구유의 휘발성 성분의 제거 실험 결과 전체 휘발성 성분의 제거율과 악취 유발성분들의 제거율은 Table 14에 나타내었다. 조건에 따른 악취 유발성분들의 감소율은 Table 15와 Fig. 18에 나타내었다. 전체 휘발성 성분의 제거에는 30℃, 200bar의 조건에서 원시료의 면적대비 99.07%의 감소율을 나타내었으며, 악취 유발 성분들은 40℃, 200bar의 초임계 이산화탄소 조건에서 초기면적대비 99.8%의 제거율을 나타내었다. 30℃, 200bar의 Chromatogram과 Compounds는 각각 Table 16와 Fig. 19에 나타내었으며, 40℃, 200bar의 Chromatogram과 Compounds는 각각 Table 17과 Fig. 20에 나타내었다.

내었고 Fig. 21과 Fig. 22에 원시료와의 Chromatogram의 비교치를 나타내었다.

실험결과 가장 낮은 온도 조건이었던 반응온도 20℃에서는 반응압력이 60bar로 가장 낮은 실험 압력에서 전체 휘발성 성분의 제거율이 가장높았던 반면, 30℃와 40℃, 50℃의 조건에서는 200bar의 가장 높은 실험 압력에서 휘발성 성분의 제거율이 높게 나타났다. 반응온도 60℃에서는 모든 압력 조건에서 거의 비슷한 휘발성 성분의 제거율을 나타내고 있다.

참치 안구유속에서 동정된 17종의 악취 유발 가능성분의 제거에 있어서는 20℃와 60℃의 모든 압력 조건에서 각각 유사한 제거율을 나타내었으며, 30℃와 40℃의 온도조건에서는 압력이 증가할수록 제거율이 증가하는 경향을 나타내었다. 반면 반응온도 50℃에서는 160bar의 압력에서 가장 높은 제거율을 나타내었다.

Table 14 Total area and odor compounds in fish oil treated by various conditions of SC-CO₂

		Total Area	Area(%)	Odor Compounds Area	Area (%)
Raw maaterial		592336333	100.00	120121239	100.00
20℃	60bar	51256217	8.65	9467087	7.88
	80bar	80984955	13.67	8444996	7.03
	120bar	181562474	30.65	5039918	4.20
	160bar	96580683	16.31	8752631	7.29
	200bar	139064872	23.48	8260491	6.88
30℃	60bar	304039366	51.33	7057919	5.88
	80bar	122842794	20.74	5563470	4.63
	120bar	25421907	4.29	4231799	3.52
	160bar	7844436	1.32	884817	0.74
	200bar	4903838	0.83	840869	0.70
40℃	80bar	94570415	15.97	7487383	6.23
	120bar	87904383	14.84	3847199	3.20
	160bar	18066919	3.05	1321761	1.10
	200bar	5768170	0.97	240993	0.20
50℃	80bar	133648391	22.56	1883755	1.57
	120bar	31266984	5.28	4781891	3.98
	160bar	6882546	1.16	541458	0.45
	200bar	11144804	1.88	1060759	0.88
60℃	80bar	6327764	1.07	1679127	1.40
	120bar	11220643	1.89	1343039	1.12
	160bar	6695163	1.13	2776389	2.31
	200bar	7227839	1.22	1335370	1.11

Table 15 Peak area composition of odor components in fish oil according to experimental conditions

No.	R. T.	Compound	raw material	20°C, 60bar	30°C, 200bar	40°C, 200bar
1	5.625	2-Propenal	1789945	5135107	186131	23629
2	5.858	Propanal	826769	nd	12960	44349
4	6.150	1-Pentene	4330914	nd	nd	nd
9	6.692	2-Butene, 2-methyl-	29703510	nd	nd	nd
11	7.017	1-Butene, 2-methyl-	33297	nd	nd	nd
15	8.775	Pentane, 2-methyl-	115110	nd	nd	nd
16	9.100	Butanal	2763451	564726	80116	nd
18	9.450	1-Butanol, 2-methyl-	106183	nd	nd	nd
20	10.408	Hexane	858211	nd	nd	nd
25	12.475	Butanal, 3-hydroxy-	222849	nd	nd	nd
32	14.900	Pentanal	8382502	nd	nd	nd
37	15.858	Heptane	7334579	13941	nd	nd
40	17.108	Disulfide, dimethyl	1958587	nd	nd	nd
46	18.275	1,3,5-Cycloheptatriene	649657	nd	nd	nd
49	19.350	n-Hexanal	35770748	3627841	445362	173015
53	19.917	Octane	11960207	nd	nd	nd
65	21.750	Ethylbenzene	429633	nd	nd	nd
Total			107236152	9467097	840869	240993
%			100	8.63	0.78	0.20

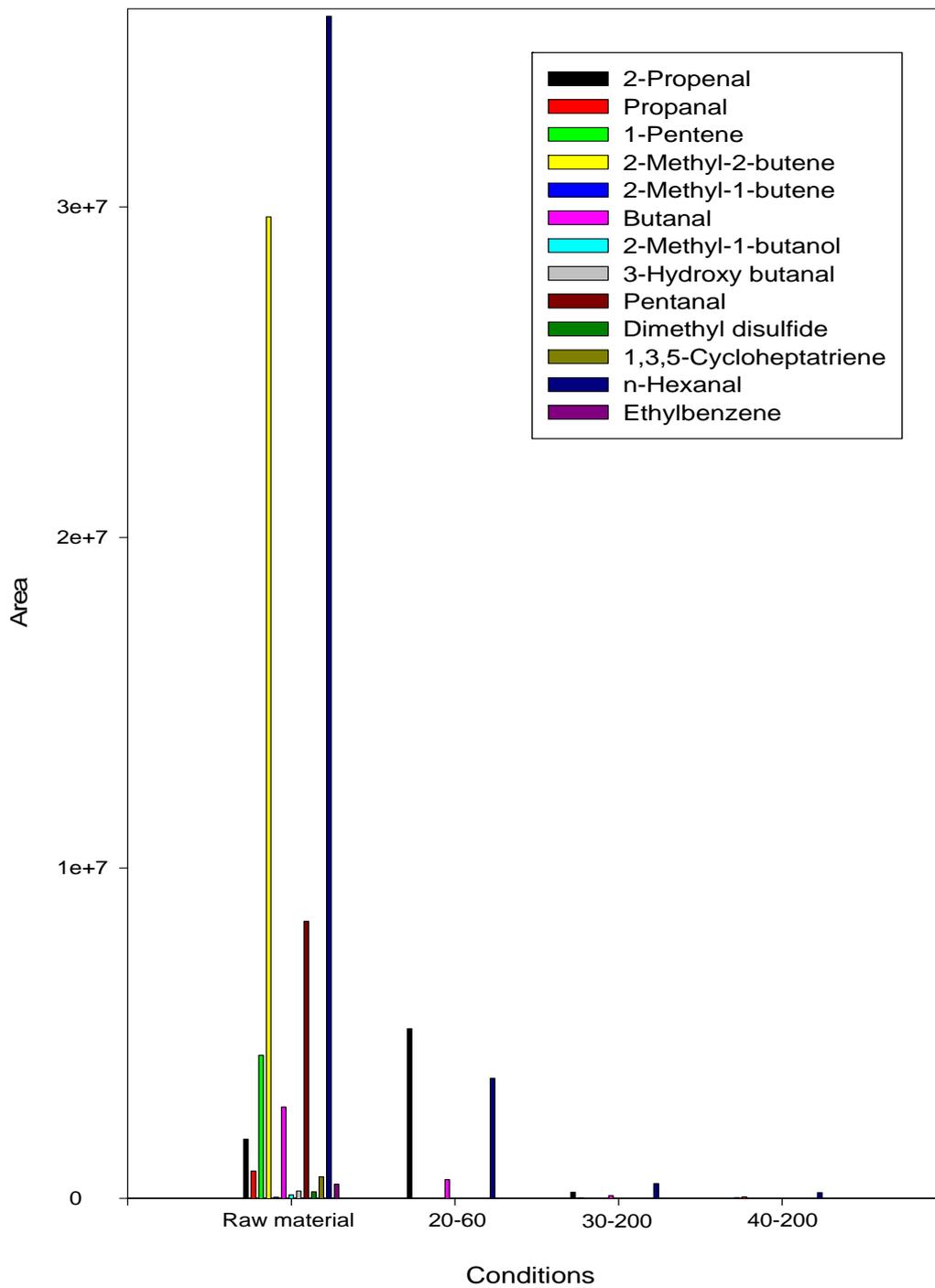


Fig. 18. Peak area of odor compounds in fish oil according to various conditions.

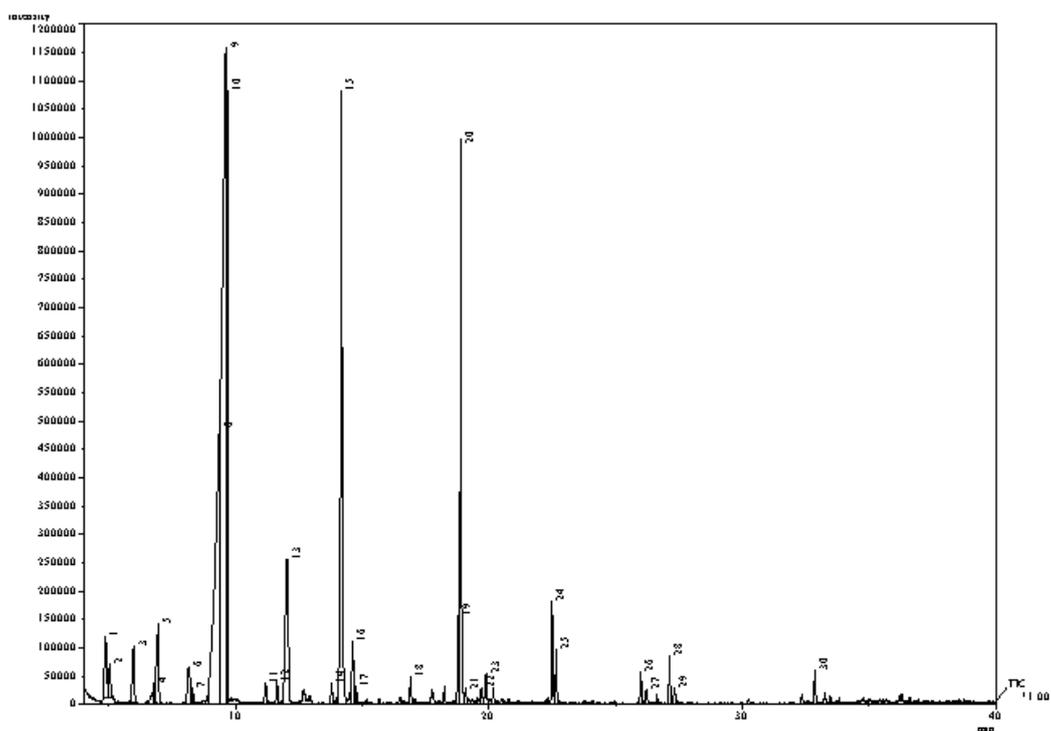


Fig. 19. Chromatogram of volatile compounds in fish oil treated by SC-CO₂ (Temp. : 30°C, Pres. : 200bar)

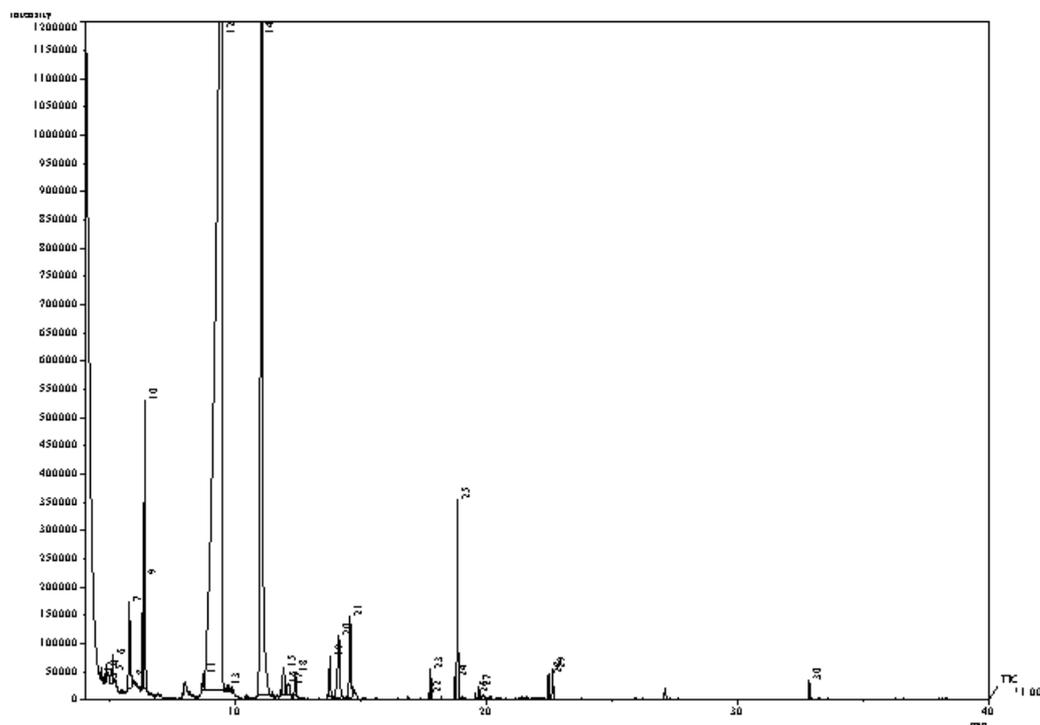


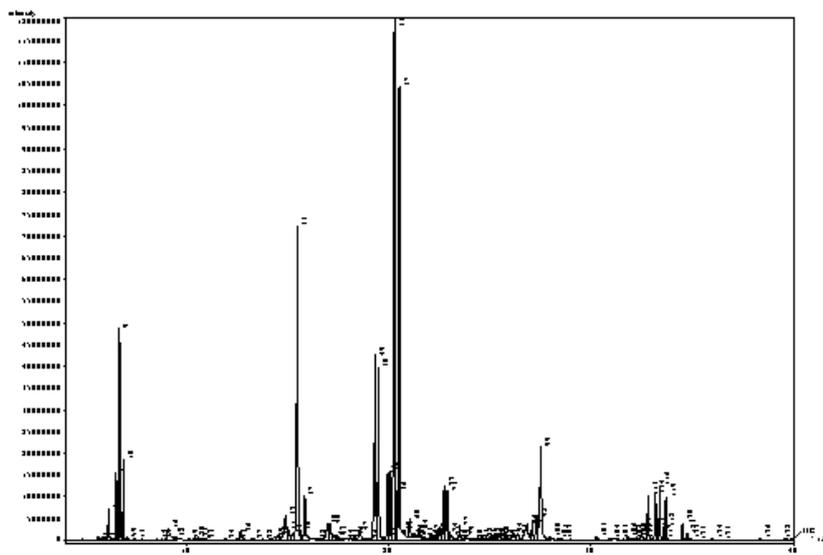
Fig. 20. Chromatogram of volatile compounds in fish oil treated by SC-CO₂ (Temp. : 40°C, Pres. : 200bar)

Table 16 Volatile Compounds of Fish Oil treated by SC-CO₂
(Temp. : 30°C, Pres. : 200bar)

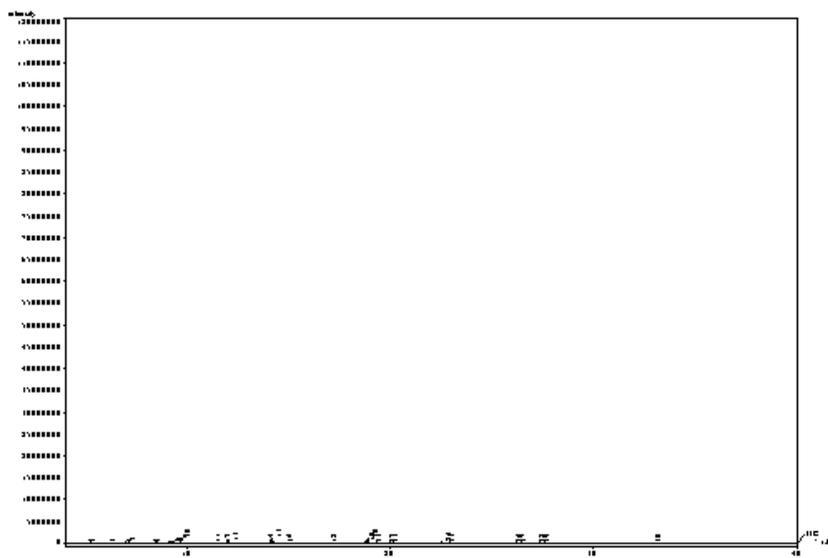
No.	Compound	Major M/Z	Area	Area %
1	2-Propenal	55	186131	3.796
2	Propanal	58	129260	2.636
3	Methyl nitrate	46	370472	7.555
4	Unknown	44	19301	0.394
5	Methanamine, N-methoxy	46	281036	5.731
6	Butanal	39	80116	1.634
7	Unknown	42	845	0.017
8	Unknown	73	22313	0.455
9	Unknown	73	82636	1.685
10	Unknown	46	591591	12.064
11	Ethan, 1,2-dichloro-	35	47844	0.976
12	Unknown	39	56212	1.146
13	1,3-Dioxalane,2-methyl-	43	615687	12.555
14	1-Penten-3-one	55	94539	1.928
15	3-Pentanone, 2-methyl-	57	724764	14.780
16	Pentane, 3-methyl-	41	120275	2.453
17	2,4-Hexadienal, (E,E)-	81	17206	0.351
18	Unknown	39	27858	0.568
19	2-Pentenal, 2-methyl-	41	118797	2.42
20	Hexanal	41	445362	9.082
21	Unknown	39	391425	7.982
22	Unknown	46	46793	0.954
23	2,5-Octadiene	39	43675	0.891
24	4-Heptanal, (Z)-	39	81021	1.652
25	Heptanal	41	53234	1.086
26	3-Pentanone, 2,4-dimethyl-	43	124661	2.542
27	Unknown	43	12548	0.256
28	Octanal	41	48701	0.993
29	Unknown	81	27591	0.563
30	6-Nonenal, (Z)-	41	41944	0.855
Total			4903838	100

Table 17 Volatile Compounds of Fish Oil treated by SC-CO₂
 (Temp. : 40°C, Pres. : 200bar)

No.	Compound	Major M/Z	Area	Area %
1	Unknown	43	26023	0.451
2	2-Propenal	56	23629	0.410
3	Unknown	43	45977	0.277
4	Propanal	58	44349	0.769
5	Unknown	39	11896	0.206
6	Furan	38	39191	0.679
7	Methyl nitrate	46	523849	9.082
8	Unknown	46	49414	0.857
9	Unknown	39	102316	1.774
10	1-Propene, 1-Chloro-, (Z)-	39	280032	4.855
11	Unknown	46	53161	0.922
12	Unknown	46	2273443	39.414
13	Unknown	46	21365	0.370
14	Ethane, 1,2-dichloro-	35	1484729	25.740
15	Unknown	43	32850	0.570
16	Unknown	43	1772	0.031
17	Unknown	43	13155	0.228
18	Unknown	78	39915	0.692
19	1,3-Butadiene, 2,3-dimethyl-	39	92026	1.595
20	2-Penten-1-ol, (Z)-	57	96490	1.673
21	Pentane, 3-methyl-	41	162359	2.815
22	Unknown	39	13574	0.235
23	1,6-Heptadiene-3-yne	39	12037	0.209
24	Unknown	39	31647	0.549
25	Hexanal	39	173015	2.999
26	Unknown	41	5297	0.092
27	Unknown	46	53944	0.935
28	4-Heptenal, (Z)-	39	41025	0.711
29	Heptanal	39	21501	0.373
30	2-Nonenal, (E)-	41	28189	0.489
Total			5768170	100

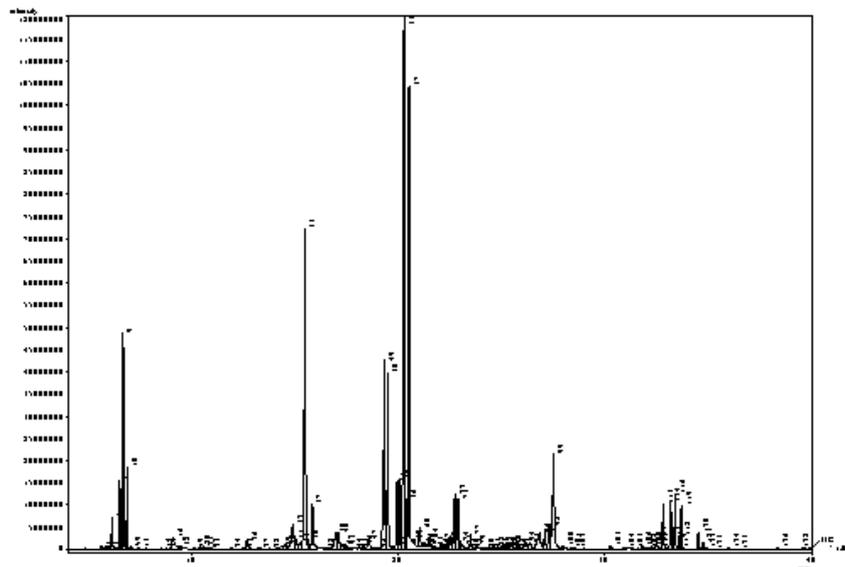


Raw material

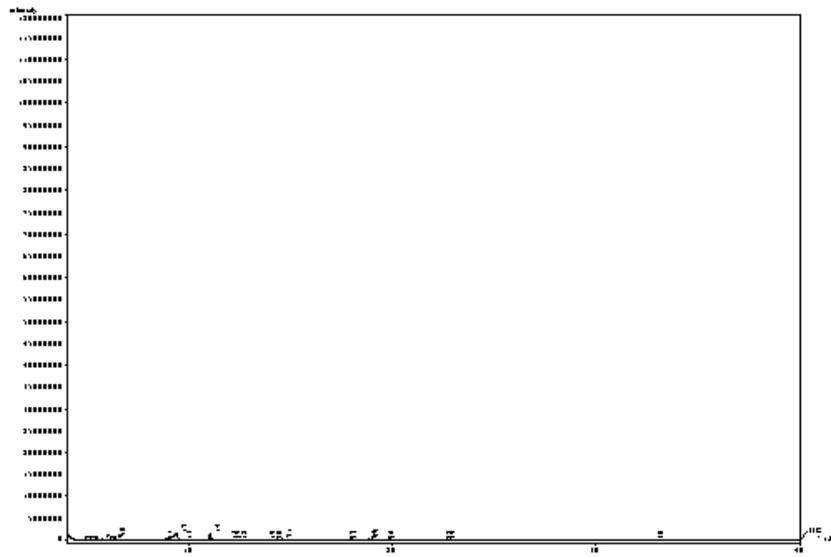


30 °C, 200bar

Fig. 21. Comparison of Chromatogram of Volatile Compounds in Fish Oil and treated by SC-CO₂ (Temp. : 30°C, Pres. : 200bar)



Raw material



40 °C, 200bar

Fig. 22. Comparison of Chromatogram of Volatile Compounds in Fish Oil and treated by SC-CO₂ (Temp. : 40°C, Pres. : 200bar)

제 4 절 연속식 공정을 이용한 어유의 휘발성 성분의 제거

연속식 초임계 이산화탄소 처리에 의한 안구유 휘발성 성분의 감소

연속식 초임계 이산화탄소 장치를 이용한 참치 안구유의 휘발성 성분의 제거 실험에 따른 전체 휘발성 성분의 제거율과 악취 유발성분들의 제거율은 Table 19에 나타내었다. 연속식 장치의 경우 회분식 장치보다는 낮은 제거율을 나타내었다. 회분식에서 반응온도 30°C, 반응 압력200bar에서 전체 휘발성성분의 99.07%가 제거된 반면 연속식의 경우는 98.96%의 제거율을 나타내었다. 또한 동정된 악취 유발성분에 있어서도 회분식에서는 원시

료 면적대비 99.22%가 제거된 반면 연속식 공정에 있어서는 98.57%가 제거되었다. 악취 유발성분으로 추정되는 aldehyde류의 제거에 있어서는 연속식 공정이 회분식 공정에 비해 불리한 것으로 나타났다. 30℃, 200bar에서의 연속식 초임계 처리에 의한 참치 안구유의 Chromatogram과 Compounds는 각각 Table 18과 Fig. 23에 나타내었으며, Fig. 24에 회분식과 연속식의 Chromatogram의 비교치를 나타내었다.

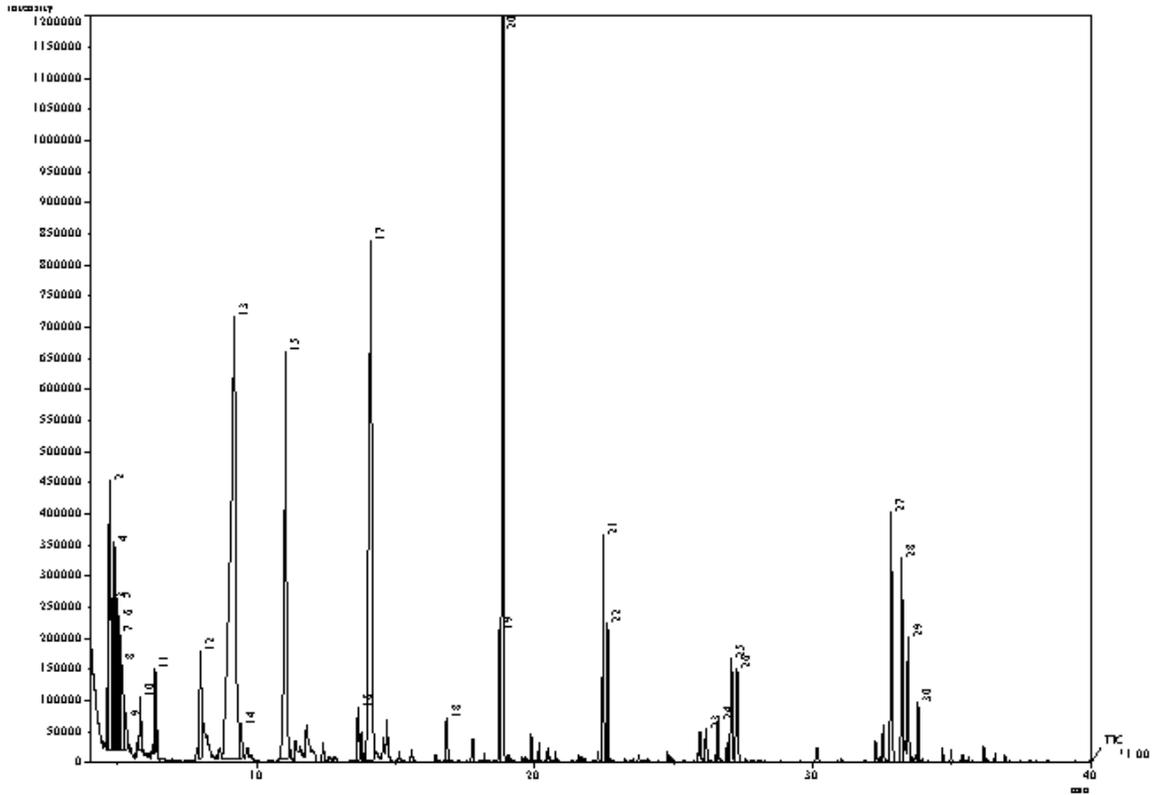
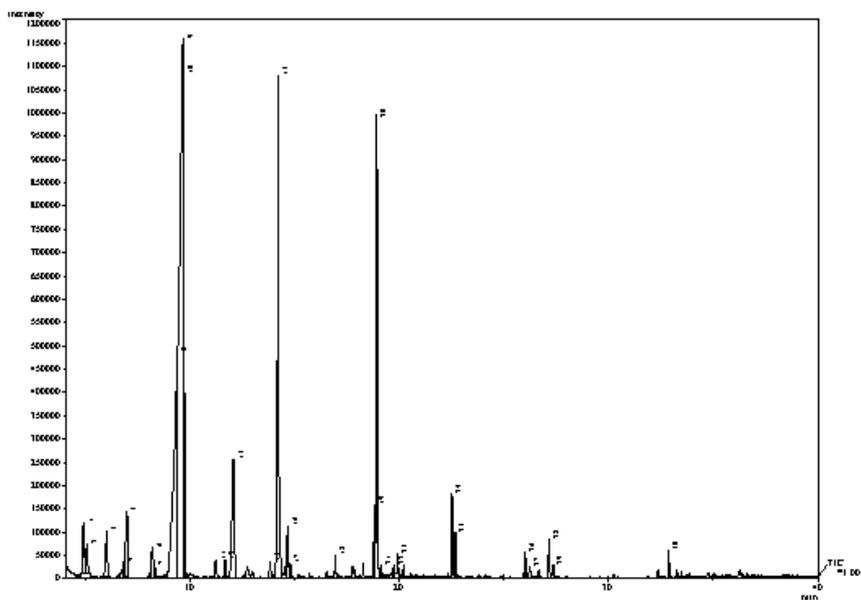


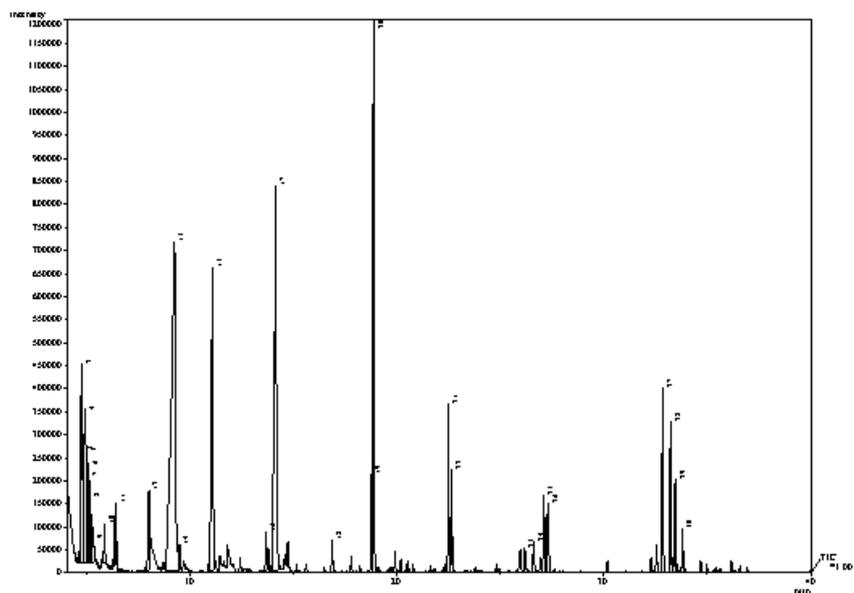
Fig. 23. Chromatogram of volatile compounds in fish oil treated by continuous SC-CO₂. (Temp. : 30℃, Pres. : 200bar, Flow : 10g/min)

Table 18 Volatile Compounds of Fish Oil treated by SC-CO₂
 (Temp. : 30°C, Pres. : 200bar, Flow : 10g/min)

No.	Compound	Major M/Z	Area	Area %
1	Unknown	55	110104	1.785
2	2-Propenal	55	245734	3.984
3	Unknown	57	32125	0.521
4	Propanal	58	124687	2.021
5	Unknown	55	30902	0.501
6	Unknown	55	12900	0.209
7	Unknown	55	11304	0.183
8	Unknown	55	2678	0.043
9	Unknown	55	69835	0.646
10	Methyl nitrate	46	265096	4.297
11	1-Propen, 1-chloro-, (Z)-	39	112023	1.816
12	Butanal	39	132448	2.147
13	Unknown	46	649749	10.533
14	Unknown	35	71213	1.154
15	Ethan, 1,2-dichloro-	35	530678	8.603
16	1-Penten-3-one	55	195695	3.172
17	2-Penten-1-ol, (E)-	57	1134543	18.392
18	2-Pentenal, (E)-	39	66334	1.075
19	3-Hexenal, (Z)-	41	187061	3.032
20	Hexanal	41	1025736	16.628
21	4-Heptanal, (Z)-	39	174070	2.822
22	Heptanal	41	121354	1.967
23	Unknown	57	42479	0.689
24	2,4-Heptadienal, (E,E)-	81	71552	1.160
25	Octanal	41	105820	1.715
26	Unknown	81	115706	1.876
27	Unknown	41	242638	3.933
28	1-Undecen-3-yne	41	172184	2.791
29	Unknown	79	94867	1.538
30	Unknown	39	47195	0.765
Total			6168710	100



Batch



Continus

Fig. 24. Comparison of Chromatogram of volatile compounds in fish oil treated by batch and continuous SC-CO₂. (T: 30 °C, P: 200bar)

Table 19 Peak area of odor components in fish oil and total area comparison according to batch and continuous SC-CO₂

No.	R. T.	Compound	raw material	Batch type	Continuous type
1	5.625	2-Propenal	1789945	186131	245734
2	5.858	Propanal	826769	12960	124687
4	6.150	1-Pentene	4330914	nd	nd
9	6.692	2-Butene, 2-methyl-	29703510	nd	nd
11	7.017	1-Butene, 2-methyl-	33297	nd	nd
15	8.775	Pentane, 2-methyl-	115110	nd	nd
16	9.100	Butanal	2763451	80116	132448
18	9.450	1-Butanol, 2-methyl-	106183	nd	nd
20	10.408	Hexane	858211	nd	nd
25	12.475	Butanal, 3-hydroxy-	222849	nd	nd
32	14.900	Pentanal	8382502	nd	nd
37	15.858	Heptane	7334579	nd	nd
40	17.108	Disulfide, dimethyl	1958587	nd	nd
46	18.275	1,3,5-Cycloheptatriene	649657	nd	nd
49	19.350	n-Hexanal	35770748	445362	1025736
53	19.917	Octane	11960207	nd	nd
65	21.750	Ethylbenzene	429633	nd	nd
Total Area of Odor Compounds			107236152	840869	1528605
%			100	0.78	1.43
Total Area of Volatile Compounds			592336333	4903838	6168710
%			100	0.83	1.04

제 5 절 초임계 유체 처리 불포화지방산의 특성

과산화물가 및 산화도

참치 안구유 원료의 과산화물가가 가장 높았으며 탈검한 원료가 가장 낮게 나타났다 (Table 20). 초임계 유체로 처리한 경우가 오히려 과산화물가가 약간 높게 나타났다. 그러나 이는 과산화물이 형성되는 원인 물질인 불포화지방산의 비율이 초임계 유체를 처리함으로써 훨씬 높아지기 때문으로 생각된다. 따라서 DHA, EPA의 함량비에 대한 과산화물가의 형태로 나타내면 Table 21과 같이 초임계 유체 처리한 경우가 훨씬 낮게 나타났다. 이는 초임계 유체로 불포화지방산을 추출할 때 본 공정의 특징인 CO₂를 이용함으로써 공정 중의 산화가 억제되고 불포화지방산이 농축된 결과로 생각된다. 또한 생산된 유지의 산화도를 알아본 결과(Table 22) 역시 원료가 가장 높게 나타났고 그 다음이 초임계 유체로 처리한 것이 높았고 탈검한 원료가 가장 낮게 나타났다. 마찬가지로 DHA, EPA함량비에 대한 산화도로 환산한 결과(Table 23) 초임계 유체로 처리한 것이 가장 낮게 나타났다. 이는 초임계 유체를 이용하여 불포화지방산의 비율이 높은 어유를 정제하는 것이 유지의 품질을 유지하는데 아주 뛰어난 효과를 지니고 있음을 나타내고 있다.

색 및 점도

원료 안구유와 초임계 유체 처리한 안구유의 점도를 측정해 본 결과 초임계 처리하지 않은 원료 안구유보다 초임계 유체 처리한 안구유가 훨씬 낮은 점도를 나타냈다(Table 24). 액상 물질의 점도는 물성에 큰 영향을 미치며 식품의 가공특성에 중요한 영향을 미치게 된다. 따라서 초임계 유체 처리함으로써 점도를 저하시켜 안구유의 활용도를 높인 결과를 나타냈다. 또한 안구유의 색은 초임계 유체 처리하지 않은 것의 경우 명도가 상당히 떨어지며 적색도와 황색도가 상대적으로 높게 나타났다(Table 25). 이는 안구유를 식품 및 기타 용도로 이용함에 있어 색이 제한요소로 작용할 우려가 있는데 초임계 처리함에 따라 색이 크게 개선되어 실용화에 크게 도움이 될 것으로 사료된다.

Table 20 Peroxide values of fish oils

Sample	Peroxide value (meq/kg)
Crude fish oils	35.82±0.01
Fish oils treated with degumming	25.63±0.24
Fish oils purified with SCCO ₂ ¹⁾	29.8

¹⁾ supercritical carbon dioxide

Table 21 Peroxide values against abundance of DHA, EPA in fish oil

Sample	Peroxide value (meq/kg)
Fish oils treated with degumming	72.56±0.24
Fish oils purified with SC-CO ₂ ¹⁾	63.4

¹⁾ supercritical carbon dioxide

Table 22 TBARS values of fish oils

Sample	TBARS value (mg/kg)
TBARS value (mg/kg)	3.598±0.003
Fish oils treated with degumming	3.494±0.014
Fish oils purified with SC-CO ₂ ¹⁾	3.557±0.001

¹⁾ supercritical carbon dioxide

Table 23 TBARS values against abundance of DHA, EPA in fish oils

Sample	TBARS value (mg/kg)
Fish oils treated with degumming	9.892±0.014
Fish oils purified with SC-CO ₂ ¹⁾	7.56±0.001

¹⁾ supercritical carbon dioxide

Table 24 Viscosity of tuna oil untreated and treated with supercritical CO₂

Samples	Viscosity
Untreated	1050±27cp
SC-CO ₂ treated ¹⁾	852±23cp

¹⁾ supercritical carbon dioxide

Table 25 Color of tuna oil treated with supercritical CO₂

Samples	L*	a*	b*
Untreated	2.33±0.00	-7.11±0.49	31.61±0.00
SC-CO ₂ treated	19.83±0.14	-0.55±0.60	24.71±0.24

제 6 절 초임계 유체 처리 어유의 가공 특성

색

안구유를 기존의 돼지 등 지방을 12.5%, 25%, 50% 대체 첨가하여 제조한 소시지의 색을 Table 26에 나타냈다. 안구유를 첨가한 결과 명도는 약간 높아졌으며, 적색도는 안구유의 첨가량이 많아질수록 낮아졌다. 그러나 안구유 미 첨가 군에 비해 큰 차이는 없었다. 황색도는 안구유 첨가비율이 높을수록 높아졌으며 특히 초임계 유체 처리하지 않은 안구유를 첨가 시 황색도가 더 높아졌다. 이는 안구유 자체의 색(Table 25)에서 나타난 특징으로 초임계 처리하지 않은 안구유가 황색도가 가장 높았던 것에 유래한 것으로 사료된다. 전반적으로 보아 안구유 첨가 시에 색의 변화는 크게 없었으며 특히 12.5% 까지 첨가 시에는 색에 있어 거의 차이가 없었다.

pH

안구유를 첨가한 소시지의 pH는 큰 변화는 없었고 또한 초임계 유체로 처리하거나 하지 않은 것에서 차이는 없었다(Table 27).

산화도 및 과산화물

안구유를 첨가하여 제조한 소시지의 경우 전반적으로 산화도가 증가하는데 첨가량이 증가할수록 산화도도 증가했다. 그런데 초임계 유체 처리한 안구유의 경우 산화도가 전반적으로 낮게 나타났으며 특히 첨가량이 많아질수록 그 차이는 크게 나타났다(Fig. 25). 이는 안구유 자체의 산화도는 초임계 유체 처리에 의해 약간 높게 나타났으나(Table 22) 가공처리할 경우 전반적으로 안정되어 있어 산화되기 어려운 것으로 사료된다. 이는 초임계 추출시 산소와의 접촉이 차단되고 이산화탄소에 의해 추출되므로 생산 후 저장, 가공 시 안정되어 있는 것으로 판단된다. 과산화 물가도 마찬가지로 첨가량에 따라 증가되지만 12.5%의 경우는 전혀 대조구에 비해 차이가 없었다(Fig. 26). 이와 같은 결과는 초임계 유체로 처리한 안구유의 경우 불포화도가 높음에도 불구하고 안정되어 있어 가공 시 산화정도가 낮아 식품의 품질 및 안전성면에 있어 큰 장점을 갖는 것을 나타내고 있다.

Table 26 Color of meat sausage added tuna oil

Samples	L*	a*	b*
Control	75.42±0.55	11.88±0.10	6.09±0.12
S12.5 ¹⁾	75.97±0.26	12.08±0.08	6.76±0.09
S25	78.10±0.10	11.58±0.09	7.25±0.06
S50	77.58±0.72	11.50±0.02	7.85±0.02
12.5	77.32±0.18	11.95±0.14	6.92±0.02
25	76.89±0.24	11.75±0.04	7.22±0.05
50	75.44±0.40	11.60±0.18	7.48±0.11

¹⁾ sausage added 12.5% tuna oil treated with SC-CO₂

Table 27 pH of meat sausage added tuna oil

Samples	pH
Control	5.79±0.00
S12.5 ¹⁾	5.71±0.01
S25	5.72±0.00
S50	5.74±0.02
12.5	5.72±0.00
25	5.72±0.00
50	5.75±0.00

¹⁾ sausage added 12.5% tuna oil treated with SC-CO₂

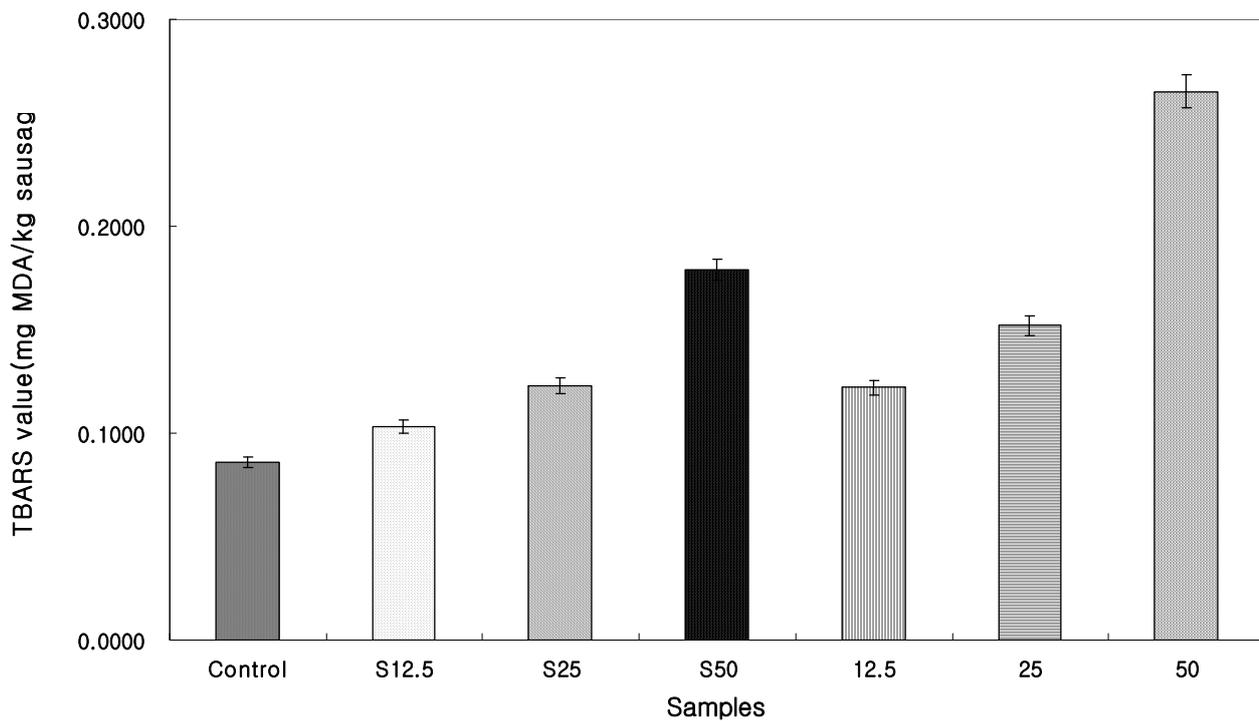


Fig. 25. TBARS values of meat sausage added tuna oil.

S12.5 : sausage added 12.5% tuna oil treated with SC-CO₂

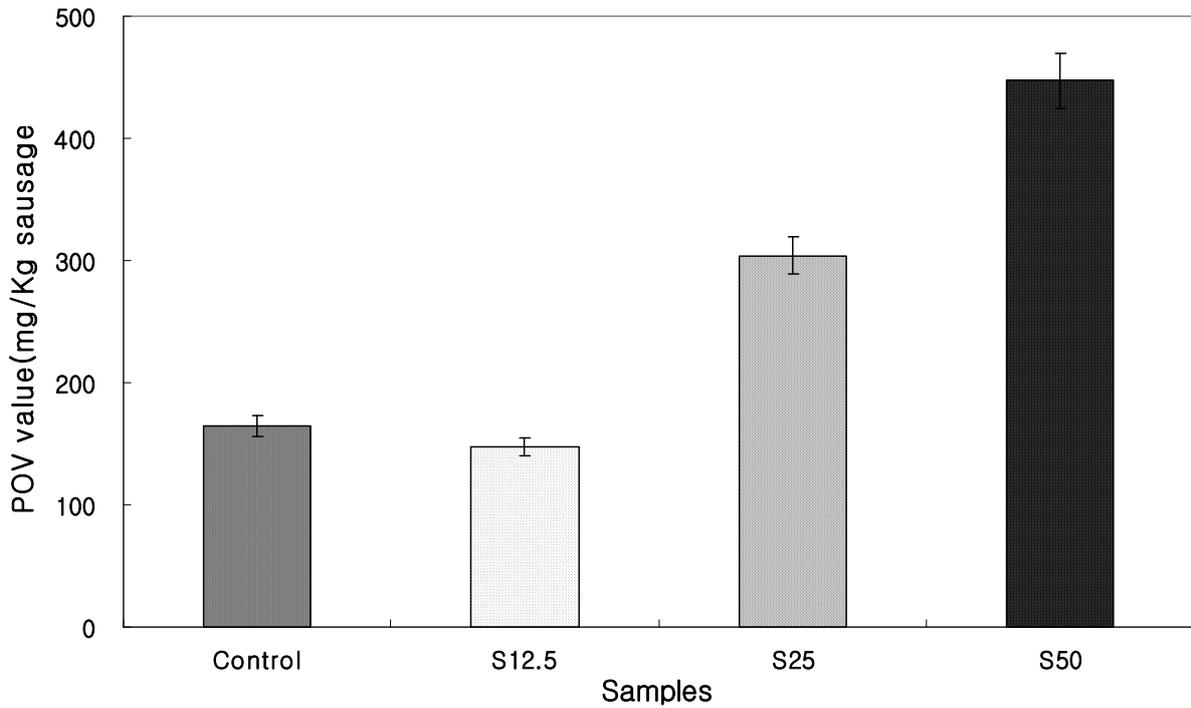


Fig. 26. POV of meat sausage added tuna oil.

S12.5 : sausage added 12.5% tuna oil treated with SC-CO₂

유화안정성

유화형 소시지를 제조함에 있어 가장 중요한 가공특성인 유화안정성은 단백질 및 유지의 특성에 따라 좌우된다. 안구유를 첨가한 경우 전반적으로 유화안정성이 돼지 등 지방을 사용한 경우보다 저하했다(Table 24). 특히 초임계 유체 처리하지 않은 안구유에 있어서는 유화안정성이 크게 저하했으며 그 중에서도 지질의 분리가 극심했다. 상대적으로 초임계 유체 처리한 안구유의 경우 유화안정성이 비교적 안정되어 있으며 특히 지질의 유리가 비교적 적은 편이었다. 그러나 12.5%의 안구유를 첨가한 경우는 유화안정성에 거의 변화가 없었다.

Table 24. Emulsifying stability of sausage emulsion added tuna oil

Samples	Moisture(%)	Fat(%)	Total(%)
Control	15.98±0.99	4.25±0.25	20.22±0.74
S12.5 ¹⁾	19.23±0.24	4.49±0.01	23.72±0.24
S25	21.25±1.26	4.75±0.25	26.00±1.01
S50	29.50±0.51	6.50±0.00	35.99±0.51
12.5	18.76±1.25	4.25±0.25	23.01±1.50
25	21.48±0.50	5.99±0.00	27.47±0.50
50	29.47±0.50	9.49±0.50	38.96±1.00

¹⁾ sausage added 12.5% tuna oil treated with SC-CO₂

물성

안구유를 첨가한 소시지의 물성을 조사한 결과 소시지의 강도를 나타내는 전단력은 안구유를 첨가할수록 감소했다(Fig. 27). 전단력에는 초임계 유체 처리한 것이나 하지 않은 것에 있어서 큰 차이는 없었다. 전반적인 질감을 조사한 결과(Table 29), 강도는 12.5%의 안구유를 첨가했을 때 가장 뛰어났으며 첨가량을 증가시켰을 경우 점점 강도가 약화되었다. 부서짐성은 안구유를 첨가할수록 저하했으며, 점착성은 크게 저하했다. 그러나 탄성은 거의 변화가 없었고, 응집성도 큰 차이는 없었다. 검성은 12.5%와 25% 첨가 시에 가장 좋게 나타났으며 50% 첨가 시에 가장 낮게 나타났다. 씹힘성 또한 12.5%와 25% 첨가 시에 가장 좋게 나타났다. 복원성은 안구유 첨가 시에 약간 저하하는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 안구유를 12.5% 까지 첨가해도 물성에는 큰 영향을 미치지 않는 것으로 나타났으며 검성, 씹힘성 등은 오히려 좋게 개선하는 특징을 나타냈다.

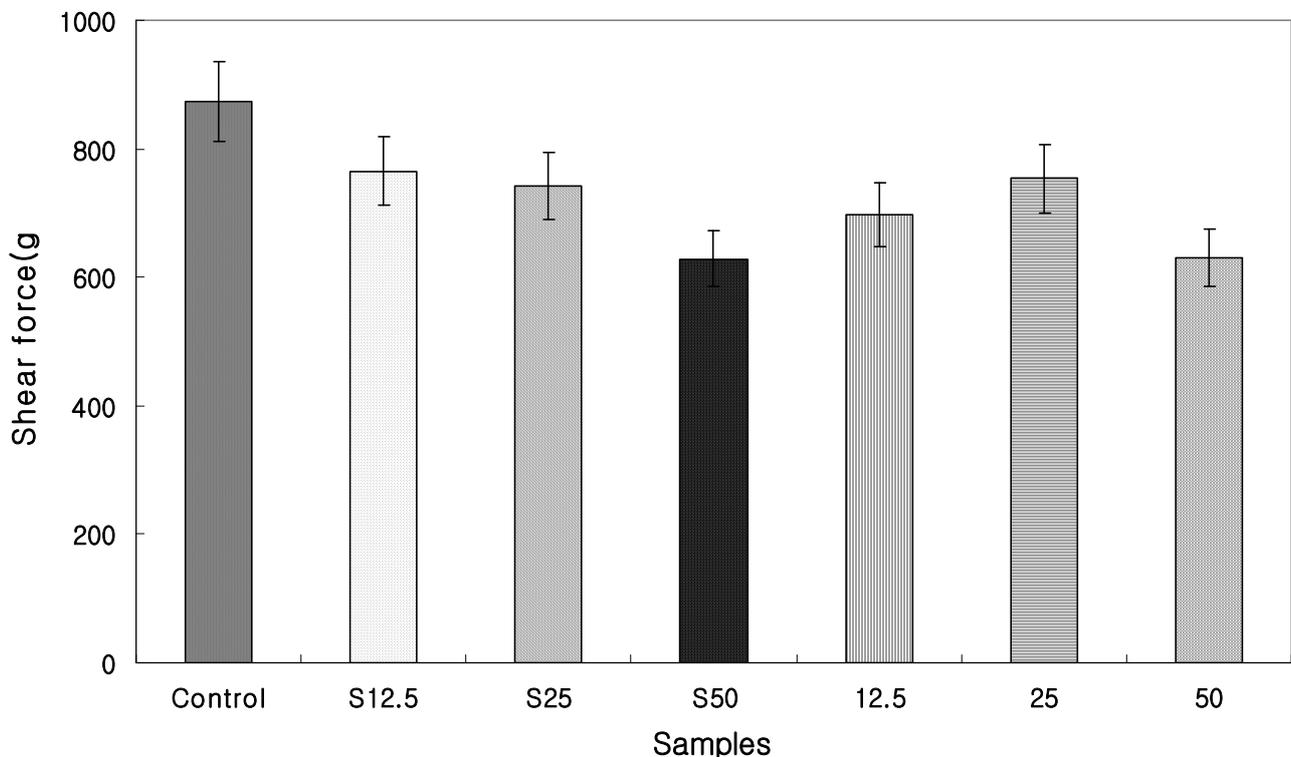


Fig. 27. Strength of meat sausage added tuna oil.

S12.5 : sausage added 12.5% tuna oil treated with SC-CO₂

Table 29 Texture of meat sausage added tuna oil

Samples	Hardness	Fracturability	Adhesiveness	Springiness
Control	1274.41 ±89.14	4.43 ±2.06	0.46 ±0.49	0.93 ±0.02
S12.5 ¹⁾	1638.77 ±121.95	3.85 ±0.62	-4.38 ±1.79	0.92 ±0.01
S25	1473.50 ±76.60	4.33 ±0.66	-1.59 ±2.63	0.94 ±0.01
S50	1060.27 ±45.31	3.16 ±0.09	-0.21 ±0.74	0.94 ±0.00
12.5	1711.33 ±42.57	4.94 ±1.38	-7.85 ±2.67	0.93 ±0.02
25	1534.42 ±79.48	4.39 ±0.27	-22.31 ±9.62	0.93 ±0.08
50	1052.24 ±78.63	2.55 ±0.14	-4.52 ±0.87	0.89 ±0.02

¹⁾ sausage added 12.5% tuna oil treated with SC-CO₂

Table 29 (Continued)

Samples	Cohesiveness	Gumminess	Chewiness	Resilience
Control	0.60 ±0.00	759.22 ±52.09	708.60 ±35.38	0.52 ±0.01
S12.5 ¹⁾	0.56 ±0.00	916.57 ±65.11	839.52 ±64.69	0.45 ±0.00
S25	0.58 ±0.01	847.86 ±33.49	796.82 ±37.82	0.49 ±0.02
S50	0.59 ±0.00	626.39 ±27.75	587.69 ±28.56	0.47 ±0.00
12.5	0.57 ±0.01	969.05 ±14.86	896.64 ±2.26	0.48 ±0.01
25	0.59 ±0.03	900.43 ±93.04	843.63 ±159.77	0.44 ±0.01
50	0.59 ±0.01	617.24 ±38.02	551.16 ±47.74	0.39 ±0.01

¹⁾ sausage added 12.5% tuna oil treated with SC-CO₂

관능적 특성

제조한 소시지를 훈련된 관능검사 요원들의 평가한 결과(Table 30), 색은 첨가하지 않은 것과 초임계 유체 처리한 안구유를 12.5% 첨가했을 때가 가장 좋게 나타났고, 향은 안구유를 첨가할수록 크게 나빠졌으나 초임계 유체 처리한 경우가 비교적 좋게 나타났다. 특히, 초임계 유체 처리한 안구유를 12.5% 첨가했을 때 가장 미 첨가 군에 접근했다. 맛 또한 안구유 첨가했을 경우 전반적으로 나쁘게 나타났으나 초임계 유체 처리한 안구유를 12.5% 첨가한 경우가 가장 미 첨가 군에 근접했다. 질감은 초임계 처리한 안구유를 첨가했을 때 전반적으로 나빠졌으며 오히려 초임계 유체 처리하지 않은 안구유를 12.5% 첨가했을 때가 가장 좋게 나타났다. 연도는 12.5%와 초임계 유체 처리한 안구유를 25% 첨가했을 때가 가장 좋았다. 탄성은 안구유를 첨가할수록 나빠지는데 초임계 유체 처리한 안구유를 12.5%, 25% 첨가한 경우가 미 첨가군에 가장 근접했다. 종합적으로 선호도를 판정한 결과 돼지 등 지방만으로 제조한 경우가 가장 좋았으나 초임계 유체 처리한 안구유를 12.5% 첨가한 경우와 큰 차이가 없었고, 그 다음이 초임계 유체 처리한 안구유 25% 첨가한 경우, 초임계 유체 처리하지 않은 안구유 12.5% 첨가 시, 처리하지 않은 안구유 25% 첨가 시, 그리고 초임계 유체 처리한 안구유 50% 첨가 시가 선호되었으며, 초임계 유체 처리하지 않은 안구유 50% 첨가한 경우가 가장 나쁘게 나타났다. 이들 가운데 가장 크게 작용하는 요인은 향과 맛으로 안구유 특유의 비린내와 맛이 문제가 되는 것으로 판단되었다. 그러나 초임계 유체 처리한 안구유의 경우 비린내를 상당히 제거한 탈취효과 까지 있어 관능적인 측면에서도 뛰어난 것으로 나타났다.

Table 30 Sensory evaluation of meat sausage added tuna oil

	Control	S12.5	S25	S50	12.5	25	50
Color	3.86±0.35	4.0±0.50	2.57±0.45	2.54±0.15	3.0±0.5	2.8±0.25	2.0±0.5
Flavor	3.29±0.51	2.57±0.33	2.0±0.00	1.5±0.5	2.0±0.5	1.5±0.5	1.0±0.00
Taste	2.86±0.44	2.0±0.55	1.71±0.27	1.1±0.3	1.95±0.05	1.25±0.25	1.2±0.2
Texture	3.75±0.43	2.57±0.43	2.86±0.74	2.0±0.1	3.75±0.25	1.85±0.25	1.0±0.00
Tenderness	3.14±0.55	3.14±0.55	3.75±0.74	2.1±0.25	3.45±0.25	2.15±0.75	1.65±0.35
Elasticity	3.43±0.44	2.57±0.43	2.57±0.68	1.95±0.25	2.35±0.55	1.95±0.45	1.55±0.5

Value (means±SD) in the same row bearing superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

5 = highly acceptable, 4 = acceptable, 2 = unacceptable, 1 = highly unacceptable

이러한 결과를 종합하여 분석한 결과 초임계 유체 처리한 안구유는 12.5% 까지 기존의 지질을 대체할 수 있었으며, 이때 대부분의 품질에 문제가 되지 않았다. 따라서 참치 안구유와 같은 해산 부산 어유를 영양적으로 문제가 되고 있는 포화지방산이 많은 가축의 지질에 대체하여 이용하면, 다량의 불포화 지방산이 영양적인 문제를 해결 해 줄 것으로 사료된다. 그러나 품질 및 기호성에 있어 문제를 일으키지 않는 범위로는 12.5% 정도의 대체가 가능한 것으로 사료된다.

제 7 절 생리기능 물질의 활성 검증

본 연구의 목적은 폐경이나 난소 절제 시 에스트로젠 분비 감소로 인한 심혈관계 질환 발병 위험율에 있어서 초임계 유체 추출 참치안구유의 갱년기 장애 극복 효과를 알아보고자 하였다.

체중 증가율

Fig. 28은 난소를 절제한 흰쥐에 투여한 추출물A의 체중 증가량에 미치는 영향을 나타낸 결과이다. 실험기간 중 난소 절제군과 난소 절제 후 추출물A를 투여한 군 모두 체중 증가를 볼 수 있었다. 실험 동물의 체중 증가량은 실험기간 중의 건강상태를 나타내는 지표라 할 수 있으며, 난소 절제한 군이 난소 절제하지 않은 군보다 체중은 증가하는 경향을 보였다. 이것은 난소 절제에 의해 체지방의 침착이 증가된다는 여러 연구의 보고에서와 같이 여성의 폐경 이후나 난소 절제 시에는 여성호르몬의 부족으로 체내 지방조직이 증가하게 된다. 또한 지방조직에서도 여성호르몬을 생성할 수 있는 기능을 갖고 있기 때문에 지방조직에서 난소의 기능을 대체하고자 하는 우리 몸의 비상대책으로 사료된다.

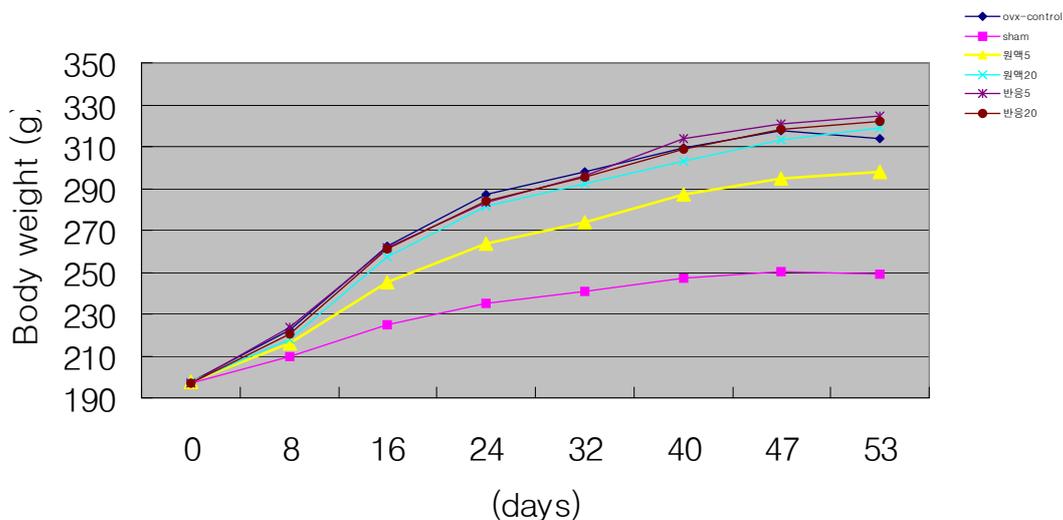


Fig. 28. Effect of tuna oil treated SC-CO₂ on body weight in ovariectomized rats.

초임계 유체처리 참치안구유가 난소절제한 흰쥐에 있어서 혈청효소 활성에 미치는 영향

Alkaline phosphatase(ALP)는 phosphomonoesterase, phosphodiesterase, phosphoric anhydrase 등으로 분류될 수 있는데 phosphomonoesterase 의 경우 십이지장이나 장의 mucosa에 상당히 많은 양이 있으나 신장 , 고등동물의 선(gland), bone, 정상적인 혈액에서 적은 농도로 존재하고 있다. 따라서 이러한 정상적인 조직에 이상이 생기거나 osteosarcoma의 경우 혈청 내에서 alkaline phosphatase의 활성도가 증가하게 된다. Fig. 29는 난소 절제 흰쥐에 A 추출물을 농도별로 투여하여 혈청 중의 효소활성 변화를 나타낸 결과이다. 난소 절제 대조군(ovx-control군)은 난소를 절제하지 않은 군(sham군)에 비해 ALP 활성이 감소한 반면, 난소 절제 후 원액 투여군 및 난소 절제 후 반응액 투여군에서는 sham군과 거의 유사한 경향을 나타내었다.

간세포에 존재하는 효소인 Glutamic pyruvic transaminase(GPT) 및 glutamic oxaloacetic transaminase(GOT) 는 간 손상 시 세포 외로 다량 유출되어 혈액에 그 양이 증가됨으로써 간 손상의 지표로 되는 효소이다. GPT 활성은 간염, 간 괴사, 간경변 등 주로 간 질환에서 상승하고, GOT 활성치는 간염, 폐쇄성 황달, 심근경색 등에서 상승한다고 한다. Fig 30과 Fig. 31에서 나타난 바와 같이 ovx-control 군 난소 절제 후 원액 및 반응액을 농도별로 투여한 군에서 각 GOT와 GPT 활성은 난소를 절제하지 않은 sham군과 유사한 경향을 나타내어, 본 결과로부터 난소 절제가 간 기능 손상에는 크게 영향을 미치지 않음을 알 수 있다.

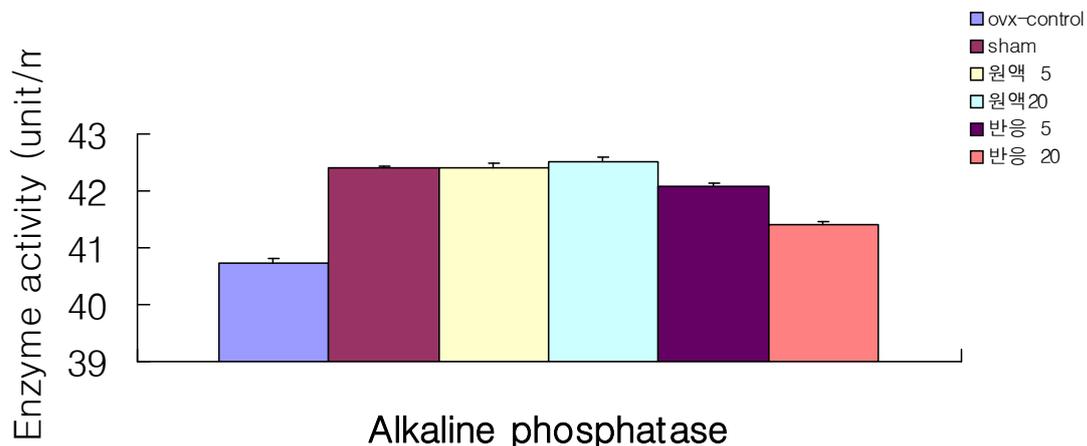


Fig. 29. Effect of tuna oil treated SC-CO₂ on serum alkaline phosphatase activity in ovariectomized rats.

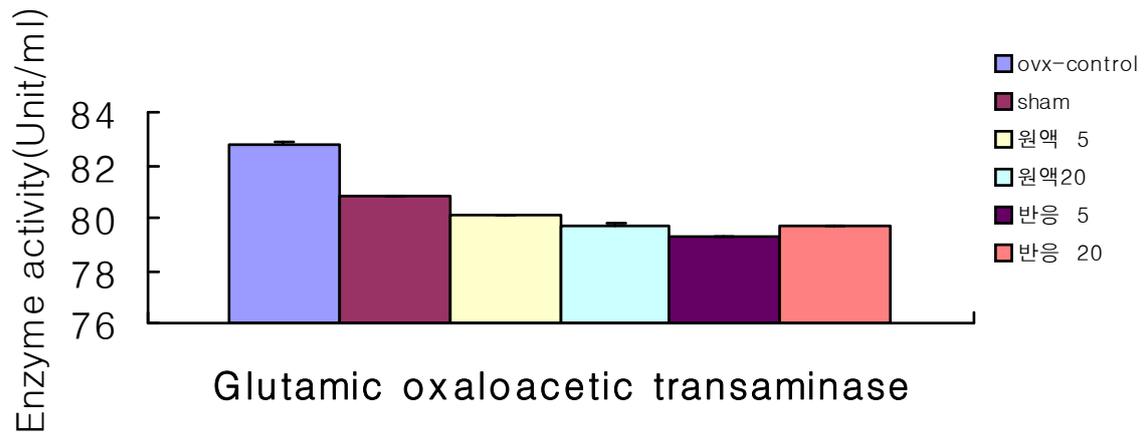


Fig. 30. Effect of tuna oil treated SC-CO₂ on serum glutamic oxaloacetic transaminase activities in ovariectomized rats.

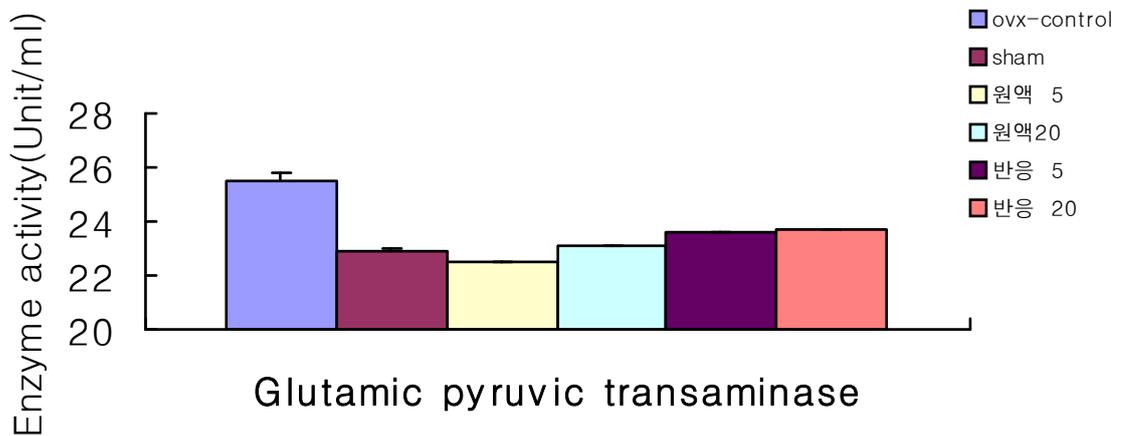


Fig. 31. Effect of tuna oil treated SC-CO₂ on serum glutamic pyruvic transaminase activities in ovariectomized rats.

초임계 유체 처리한 참치안구유가 난소 절제한 흰쥐에 있어서 혈청 지질 농도에 미치는 영향

난소 절제 흰쥐에 초임계 유체 처리 안구유를 투여하여 폐경기 에스트로겐 분비 감소로 발생하는 체내 지질 함량 증가에 미치는 영향을 조사하였다. 혈 중 cholesterol 수준 증가는 본태성, 가족성 고 cholesterol 혈증(type IIa, IIb, III), 당뇨병, 신장증후군, 폐쇄성 황달, 갑상선 기능저하, Cushing 증후군 등에서 볼 수 있고 만성 간장장애, 갑상선 기능항진, 빈혈, 백혈병, 다발성 골수증, 급성 황색 간위축증, 영양실조 등에서 감소한다.

Fig. 32에서 난소 절제 후 A 추출물의 농도별 투여에서 콜레스테롤 농도는 ovx-control 군이 sham군에 비해 증가하는 반면, 난소 절제 후 A 추출물 투여군에서는 감소하는 경향을 보였다. Fig. 33 에서는 혈 중 중성지방의 농도를 나타낸 결과로 ovx-control 군은 난소 절제 후 A 추출물 투여에 의해 감소하는 경향이 나타났다. 한편, 혈 중 HDL-cholesterol 농도는 ovx-control 과 비교하여 난소 절제 후 A 추출물 투여군에서 그 수치가 유의적으로 높게 나타났다(Fig. 34).

폐경기 여성을 대상으로 한 다수의 연구에서 에스트로겐을 투여하면 HDL-cholesterol 농도가 증가하고 LDL-cholesterol 농도가 감소하므로 혈 중 지질 대사에 유의한 변화가 나타난다는 보고를 통해 본 연구에서 난소 절제후 초임계 유체 처리 안구유를 투여한 군이 무 투여 군들에 비해 그 효과가 유효하게 나타난 것은 추출물 중의 성분이 갱년기에서 나타나는 혈중 지질 함량 변화에 영향을 준 것으로 사료되어 진다. 또한 이러한 결과를 볼 때 난소 절제 후 초임계 유체 처리 안구유 투여가 혈 중 중성지질의 수준을 낮추어 줌으로써 혈관벽에 간접적인 영향을 주어 심혈관계질환의 위험을 감소시켜 줄 것으로 보인다.

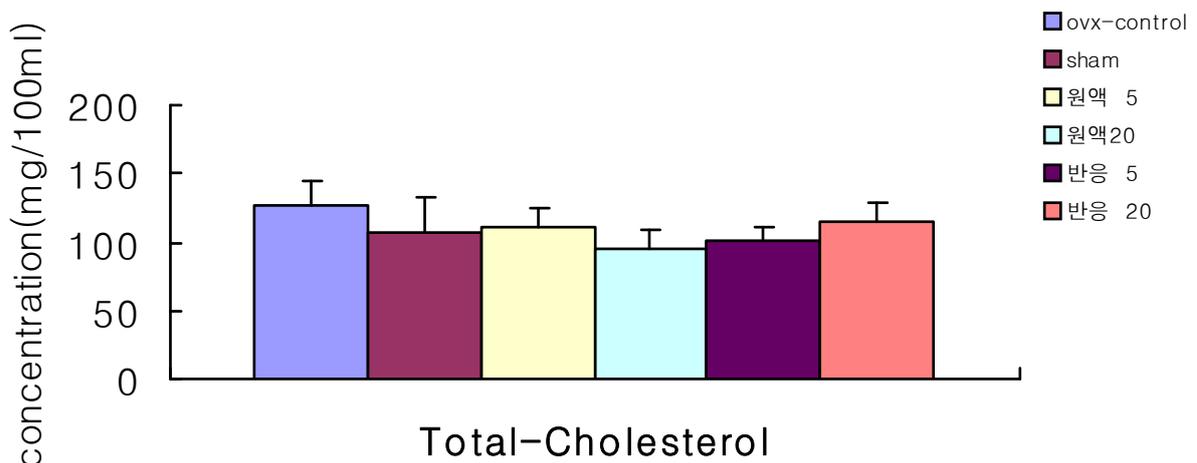


Fig. 32. Effects of tuna oil treated SC-CO₂ on serum total cholesterol concentration in ovariectomized rats.

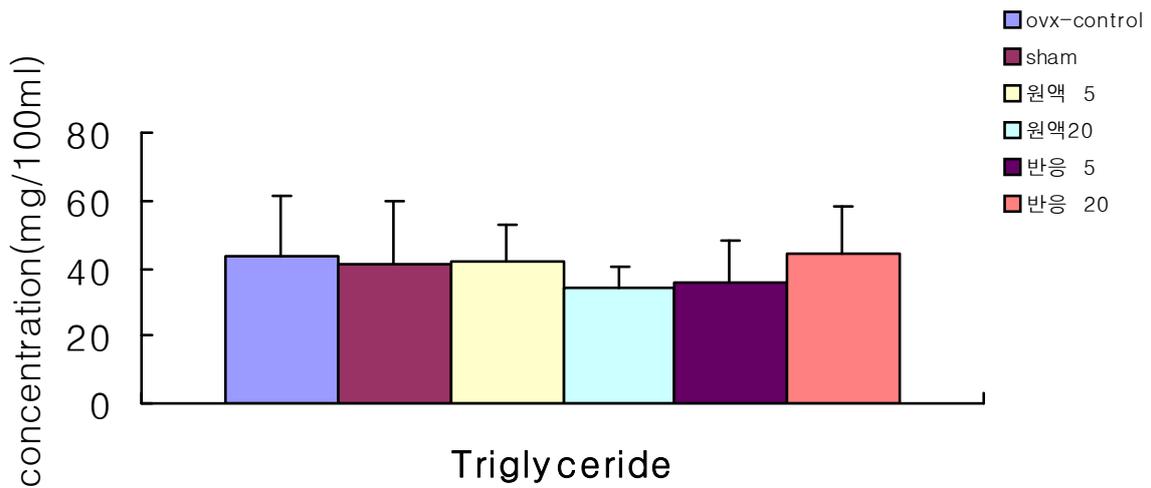


Fig. 33. Effect of tuna oil treated SC-CO₂ on serum triglyceride concentration in ovariectomized rats.

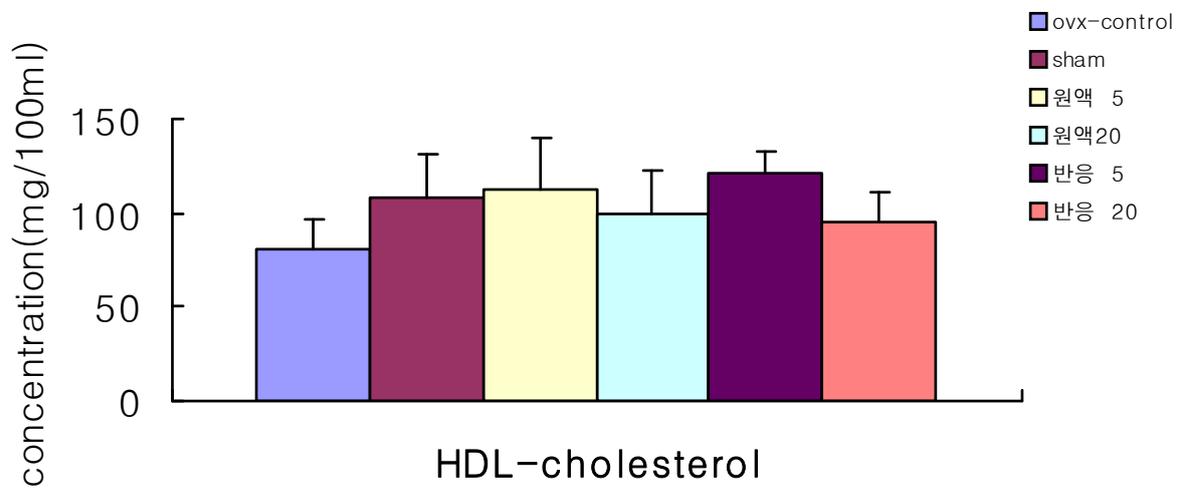


Fig. 34. Effect of tuna oil treated SC-CO₂ on serum HDL-cholesterol concentration in ovariectomized rats.

용도

- ◎ 유화식품; 식품산업에 있어 기존의 유화제품에 일부 첨가할 수 있으며, 특히 영양적으로 문제가 되는 축산 지방을 부분적으로 대체하여 영양적으로 균형을 맞출 수 있고, 특히 초임계 유체 처리에 의해 산화를 억제할 수 있기 때문에 영양적인 손실 및 독성 물질의 생성을 억제하여 안전한 식품을 개발 할 수 있다.
- ◎ 건강보조식품; 뇌의 활동 및 혈관 등의 순환기 계통의 질환을 예방 할 수 있고 치매예방 및 어린이 뇌 성장을 촉진시키는 건강보조식품의 형태로도 의미가 크다. 즉, 혈중 지질을 감소시켜 혈행을 좋게하며 콜레스테롤을 감소시켜 혈관을 튼튼하게 유지하여 순환기 계통의 질환을 예방하는 등의 효과를 얻을 수 있다.
- ◎ 기능성 식품; 순환기 질환 예방, 갱년기 질환 예방, 우울증 예방 및 치료, 뇌 기능의 촉진 등의 기능을 살려 기능성 식품으로 개발되고 있다.
- ◎ 의약품 원료; 치매 예방, 순환기 질환 예방, 우울증 예방, 갱년기 질환 예방의 목적으로 의약적으로 이용가능.

제 5 장 결론

초임계 이산화탄소를 이용한 오징어 내장유 추출은 압력 8.3~13.8MPa 과 온도 25~50℃에서 semi-continuous flow extractor로 entrainer로서의 3%(v/v) ethanol을 첨가한 것과 첨가하지 않은 것으로 수행되었다.

초임계 이산화탄소를 이용한 오징어 내장유 추출에서 지질의 최고 추출 수율은 압력 12.4 MPa, 온도 40℃ 그리고 밀도 0.73g/cm³에서 1시간 동안 추출하였을 때 추출량이 1.48g으로 가장 높게 나타났다. 초임계 이산화탄소를 이용한 오징어 내장유 추출에서 entrainer로서의 에탄올을 흘려 보냈을 때에는 압력 12.4 MPa, 온도 40℃에서 에탄올을 흘려보내지 않았을 때보다 월등히 많은 4.85g으로 가장 많은 양이 추출되었다. 초임계 이산화탄소에 의해 추출된 지질추출물의 주요 지방산은 Myristic acid(14:0), Palmitic acid(16:0), Palmitoleic acid(16:1), Oleic acid(18:1), Eicosapentaenoic acid(20:5), Docosahexaenoic acid(22:6)로 나타났다. 또한 각 조건에서 추출된 오징어 내장유에 함유된 EPA와 DHA의 함량은 압력 12.4MPa과 온도 30℃에서 각각 129.28mg과 217.40mg으로 가장 높게 나타났다.

초임계 유체를 이용한 참치 안구유로부터 고도 불포화 지방산의 정제를 위한 실험은 온도범위 40℃~80℃, 압력범위 70bar~200bar, 유량 10~25g/ml의 범위에서 수행되어졌다. 참치 안구유의 원시료에는 고도불포화 지방산인 Docosahexaenoic acid (C_{22:6})의 함량이 26.93%로 가장 많았으며, Eicosapentaenoic acid (C_{20:5})는 8.52%의 함량을 보였다. 불포화 지방산과 포화지방산의 비율은 약 2:3정도로 나타났다.

온도 40℃, 압력 140bar, 추출시간은 60분의 조건에서 DHA와 EPA등의 고도불포화지방산의 함량이 가장 높게 나타났으며, DHA의 함량은 32.7%로 나타났으며, 이는 초기함량 26% 대비 약 25.7%의 함량의 증가를 가져왔다.

초임계 유체를 이용한 참치 안구유로부터 휘발성 성분의 제거실험은 온도범위 20℃~60℃, 압력범위 60bar~200bar, 유량은 10g/min, 반응시간은 40분의 조건에서 수행되었다.

원시료에는 Dimethyl disulfide등의 17종의 악취 유발성분등 모두 130여개의 휘발성 성분이 존재 하였다. 실험결과 온도 30℃, 압력 200bar의 조건에서 전체휘발성 성분의 99.0%이상을 제거하는 효율을 보였으며. 온도 40℃, 압력 200bar의 조건에서 동정된 악취 유발성분의 99.8%를 제거하는 효과를 나타내었다. 30℃, 200bar에서 이루어진 연속식 초임계 이산화탄소의 실험에서는 회분식보다는 낮은 98.96%의 제거율을 나타내었으며, 악취 유발성분의 제거율도 98.57%로 회분식 보다 낮은 제거율을 나타내었다. 특히 악취 유발성분 중에서 Aldehyde류의 제거에 있어서는 연속식이 회분식에 비해 낮은 제거율을 나타내었다.

초임계 이산화탄소로 정제된 고도불포화 지방산을 함유한 어유의 특성 실험결과, 과산화물가 및 산화도 초임계 유체로 처리한 경우가 오히려 과산화물가가 약간 높게 나타났다. 그러나 이는 과산화물이 형성되는 원인 물질인 불포화지방산의 비율이 초임계 유체를 처리함으로써 훨씬 높아지기 때문으로 생각된다. 따라서 DHA, EPA의 함량비에 대한 과산화물가의

형태로 나타내면 초임계 유체 처리한 경우가 훨씬 낮게 나타났다. 이는 초임계 유체로 불포화지방산을 추출할 때 본 공정의 특징인 CO₂를 이용함으로써 공정 중의 산화가 억제되고 불포화지방산이 농축된 결과로 생각된다. 또한 생산된 유지의 산화도를 DHA, EPA 함량비에 대한 산화도로 환산한 결과 초임계 유체로 처리한 것이 가장 낮게 나타났다. 이는 초임계 유체를 이용하여 불포화지방산의 비율이 높은 어유를 정제하는 것이 유지의 품질을 유지하는데 아주 뛰어난 효과를 지니고 있음을 나타내고 있다. 점도는 초임계 유체 처리한 안구유가 초임계 처리하지 않은 원료 안구유보다 초임계 유체 처리한 안구유가 훨씬 낮은 점도를 나타냈다. 액상 물질의 점도는 물성에 큰 영향을 미치며 식품의 가공특성에 중요한 영향을 미치게 된다. 따라서 초임계 유체 처리함으로써 점도를 저하시켜 안구유의 활용도를 높인 결과를 나타냈다. 또한 안구유의 색은 초임계 유체 처리하지 않은 것의 경우 명도가 상당히 떨어지며 적색도와 황색도가 상대적으로 높게 나타났다. 이는 안구유를 식품 및 기타 용도로 이용함에 있어 색이 제한요소로 작용할 우려가 있는데 초임계 처리함에 따라 색이 크게 개선되어 실용화에 크게 도움이 될 것으로 사료된다.

소시지를 이용한 초임계 유체 처리 어유의 가공 특성을 실험한 결과 안구유를 첨가한 경우 명도는 약간 높아졌으며, 적색도는 안구유 첨가량이 많아질수록 낮아졌다. 그러나 안구유 미 첨가 군에 비해 큰 차이는 없었다. 황색도는 안구유 첨가비율이 높을수록 높아졌으며 특히 초임계 유체 처리하지 않은 안구유를 첨가 시 황색도가 더 높아졌다. 이는 안구유 자체의 색에서 나타난 특징으로 초임계 처리하지 않은 안구유가 황색도가 가장 높았던 것에 유래한 것으로 사료된다. 전반적으로 보아 안구유 첨가 시에 색의 변화는 크게 없었으며 특히 12.5% 까지 첨가 시에는 색에 있어 거의 차이가 없었다. 안구유를 첨가하여 제조한 소시지의 경우 전반적으로 산화도가 증가하는데 첨가량이 증가할수록 산화도도 증가했다. 그런데 초임계 유체 처리한 안구유인 경우 산화도가 전반적으로 낮게 나타났으며 특히 첨가량이 많아질수록 그 차이는 크게 나타났다. 이는 안구유 자체의 산화도는 초임계 유체 처리에 의해 약간 높게 나타났으나 가공처리 할 경우 전반적으로 안정되어 있어 산화되기 어려운 것으로 사료된다. 이는 초임계 추출 시 산소와의 접촉이 차단되고 이산화탄소에 의해 추출되므로 생산 후 저장, 가공 시 안정되어 있는 것으로 판단된다. 과산화 물가도 마찬가지로 첨가량에 따라 증가되지만 12.5%의 경우는 전혀 대조구에 비해 차이가 없었다. 이와 같은 결과는 초임계 유체로 처리한 안구유인 경우 불포화도가 높음에도 불구하고 안정되어 있어 가공 시 산화정도가 낮아 식품의 품질 및 안전성면에 있어 큰 장점을 갖는 것을 나타내고 있다. 유화형 소시지를 제조함에 있어 가장 중요한 가공특성인 유화안정성은 단백질 및 유지의 특성에 따라 좌우된다. 초임계 유체 처리한 안구유인 경우 유화안정성이 비교적 안정되어 있으며 특히 지질의 유리가 비교적 적은 편이었다. 그러나 12.5%의 안구유를 첨가한 경우는 유화안정성에 거의 변화가 없었다. 안구유를 첨가한 소시지의 물성을 조사한 결과 전반적인 질감은 강도는 12.5%의 안구유를 첨가했을 때 가장 뛰어났으며 첨가량을 증가시켰을 경우 점점 강도가 약화되었다. 부서짐성은 안구유를 첨가할수록 저하했으며, 점착성은 크게 저하했다. 그러나 탄성은 거의 변화가 없었고, 응집성도 큰 차이는 없었다. 겉성은 12.5%와 25% 첨가 시에 가장 좋게 나타났으며 50% 첨가 시에 가장 낮게 나타났다. 씹힘성 또한 12.5%와 25% 첨가 시에 가장 좋게 나타났다. 복원성은 안구유 첨가 시에 약간 저하하는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 안구유를 12.5% 까지 첨가해도 물성에는 큰 영향을 미치지 않는 것으로 나타났으며 겉성, 씹힘성 등은 오히려 좋게 개선하는 특징을 나타냈다.

제조한 소시지를 훈련된 관능검사 요원들의 평가한 결과, 색은 첨가하지 않은 것과 초임계 유체 처리한 안구유를 12.5% 첨가했을 때가 가장 좋게 나타났고, 향은 안구유를 첨가할 수록 크게 나빠졌으나 초임계 유체 처리한 경우가 비교적 좋게 나타났다. 특히, 초임계 유체 처리한 안구유를 12.5% 첨가했을 때 가장 미 첨가 군에 접근했다. 종합적으로 선호도를 판정한 결과 돼지 등 지방만으로 제조한 경우가 가장 좋았으나 초임계 유체 처리한 안구유를 12.5% 첨가한 경우와 큰 차이가 없었다. 가장 크게 작용하는 요인 dsl 향과 맛으로 안구유 특유의 비린내와 맛이 문제가 되는 것으로 판단되었다. 그러나 초임계 유체 처리한 안구유의 경우 비린내를 상당히 제거한 탈취효과 까지 있어 관능적인 측면에서도 뛰어난 것으로 나타났다.

이러한 결과를 종합하여 분석한 결과 초임계 유체 처리한 안구유는 12.5% 까지 기존의 지질을 대체할 수 있었으며, 이때 대부분의 품질에 문제가 되지 않았다. 따라서 참치 안구유와 같은 해산 부산 어유를 영양적으로 문제가 되고 있는 포화지방산이 많은 가축의 지질에 대체하여 이용하면, 다량의 불포화 지방산이 영양적인 문제를 해결 해 줄 것으로 사료된다. 그러나 품질 및 기호성에 있어 문제를 일으키지 않는 범위로는 12.5% 정도의 대체가 가능한 것으로 사료된다.

본 실험의 목적은 폐경이나 난소 절제 시 에스트로겐 분비 감소로 인한 심혈관계 질환 발병 위험율에 있어서 초임계 유체 추출 참치안구유의 갱년기 장애 극복 효과를 알아보고자 하였다.

난소 절제 흰쥐에 초임계 유체 처리 안구유를 투여하여 폐경기 에스트로겐 분비 감소로 발생하는 체내 지질 함량 증가에 미치는 영향을 조사하였다. 혈 중 cholesterol 수준 증가는 본태성, 가족성 고 cholesterol 혈증(type IIa, IIb, III), 당뇨병, 신장증후군, 폐쇄성 황달, 갑상선 기능저하, Cushing 증후군 등에서 볼 수 있고 만성 간장장애, 갑상선 기능항진, 빈혈, 백혈병, 다발성 골수증, 급성 황색 간위축증, 영양실조 등에서 감소한다. 난소 절제 후 A 추출물의 농도별 투여에서 콜레스테롤 농도는 ovx-control 군이 sham 군에 비해 증가하는 반면, 난소 절제 후 A 추출물 투여군에서는 감소하는 경향을 보였다. ovx-control 군은 난소 절제 후 A 추출물 투여에 의해 감소하는 경향이 나타났다. 한편, 혈 중 HDL-cholesterol 농도는 ovx-control 과 비교하여 난소 절제 후 A 추출물 투여군에서 그 수치가 유의적으로 높게 나타났다. 폐경기 여성을 대상으로 한 다수의 연구에서 에스트로겐을 투여하면 HDL-cholesterol 농도가 증가하고 LDL-cholesterol 농도가 감소하므로 혈 중 지질 대사에 유익한 변화가 나타난다는 보고를 통해 본 실험에서 난소 절제후 초임계 유체 처리 안구유를 투여한 군이 무 투여 군들에 비해 그 효과가 유효하게 나타난 것은 추출물 중의 성분이 갱년기에서 나타나는 혈중 지질 함량 변화에 영향을 준 것으로 사료되어 진다. 또한 이러한 결과를 볼 때 난소 절제 후 초임계 유체 처리 안구유 투여가 혈 중 중성지질의 수준을 낮추어 줌으로써 혈관벽에 간접적인 영향을 주어 심혈관계질환의 위험을 감소시켜 줄 것으로 보인다.

어유의 고도 불포화 지방산은 뇌의 활동 및 혈관 등의 순환기 계통의 질환을 예방 할 수 있고 치매예방 및 어린이 뇌 성장을 촉진시키는 건강보조식품의 형태로도 의미가 크다. 즉, 혈중 지질을 감소시켜 혈행을 좋게하며 콜레스테롤을 감소시켜 혈관을 튼튼하게 유지하여

순환기 계통의 질환을 예방하는 등의 효과를 얻을 수 있다. 또한 순환기 질환 예방, 갱년기 질환 예방, 우울증 예방 및 치료, 뇌 기능의 촉진 등의 기능을 살려 기능성 식품으로 개발되고 있으며, 치매 예방, 순환기 질환 예방, 우울증 예방, 갱년기 질환 예방의 목적으로 의약적으로 이용가능하다.

초임계 이산화탄소를 이용한 어유의 고순도 불포화 지방산의 정제 및 특유의 이취를 제거하는 방법은 식품산업에 있어 기존의 유화제품에 일부 첨가할 수 있으며, 특히 영양적으로 문제가 되는 축산 지방을 부분적으로 대체하여 영양적으로 균형을 맞출 수 있고, 특히 초임계 유체 처리에 의해 산화를 억제할 수 있기 때문에 영양적인 손실 및 독성 물질의 생성을 억제하여 안전한 식품 및 의약품의 원료로 개발 할 수 있을 것으로 사료된다.

제 6 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

본 연구는 고도불포화지방산을 함유한 어유로부터 비린내등의 특유의 이취를 제거함과 동시에 고순도의 고도불포화지방산을 정제하고 이를 이용한 식품의 적용가능성과 정제유속의 생리활성 물질의 기능성을 검증하는 것에 그 목표를 두고 있다.

본 연구에서는 고도불포화 지방산의 정제와 이취성분의 제거를 위한 비열처리 공정의 회분식과 연속식 공정을 효과적으로 설계하였으며, 오징어 내장유와 참치 안구유등 해산어류의 DHA 및 EPA등의 고도불포화지방산의 함량과 정제시의 회수율을 검토하였다. 또한 정제된 어유를 이용한 식품의 적용 가능성을 검토하였으며, 생리물질의 기능성도 확인하였다.

초임계 이산화탄소를 이용한 고도불포화지방산의 정제는 초기의 DHA 함량이 26%인 해산어유로부터 32.7%로 초기함량대비 25.7%의 증가를 가져왔으며, 악취물질을 포함한 휘발성 성분은 초기함량대비 0.83%로 99.17%의 제거율을 보였다. 또한 소시지의 제조를 통해 알아본 고도불포화 지방산 함유 어유의 가공특성은 초임계 처리를 통한 어유의 경우 기존의 유지를 일부 대체 할 있는 것으로 나타났다. 또한 생리활성물질의 기능성을 쥐를 통해 검증한 결과 기존의 연구 결과와 같이 심장 혈관계 질환에 효과가 있는 것으로 나타났다.

본 연구를 통해 국내에서는 아직 활용이 미비한 초임계 기술을 이용하여 부산물로 나오는 해양어유로부터 고기능성 고부가가치성의 신제품을 개발할 수 있을 것으로 사료되며, 이는 수산분야에 새로운 산업으로 발전시킬 수 있을것으로 판단된다.

제 7 장 연구개발결과의 활용계획

본 연구 결과 기존의 연구에서 이미 어유로부터의 고도불포화 지방산의 농축 및 정제 기술은 알려졌으나, 이를 위한 시료의 준비과정이 복잡하고 수율이 낮다는 단점이 있다. 따라서 가공공정의 단순화와 비용의 절감을 위해 시료자체를 이용해 80%이상의 고도의 순도를 가지는 고도불포화 지방산의 정제를 위한 공정의 개발이 필요하다고 생각되며, 어유의 이용에 가장 큰 걸림돌이 되고 있는 비린내 등의 이취의 제거방법에서도 본 연구에서 전체 휘발성 성분과 일부 악취 유발성분들의 제거 정도는 연구되었으나, 이의 정량적인 분석방법과 악취 성분의 완전한 제거를 위한 연구가 계속해서 진행되어야 한다고 생각된다.

이러한 연구가 지속 적으로 진행된다면 해산 어유로부터의 고부가가치의 기능성 물질의 정제와 이를 이용한 새로운 식품의 개발과 의약품 원료로의 이용 등 그 사용범위는 확대될 것으로 사료된다. 또한 본 연구 진행 중 (주)고센크리텍과 전략적 협상으로 본 과제에 지속적인 연구 개발을 위한 일부 자금의 지원을 약속 받아 상업적인 생산을 위한 pilot-plant의 구축을 준비중이다.

제 8 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

- 초임계 유체 추출에 의한 분리 정제

○ 초임계 추출을 이용한 대표적 상업적 응용은 초임계 이산화탄소를 추출 용매로 하여 coffee에 있는 caffeine을 제거 기술¹¹⁾로 식품 산업의 분리 정제 분야에 큰 발전을 기여하였다.

○ Schultz와 Randall³⁹⁾은 dense 이산화탄소를 사용하여 기존의 향추출 공정에서 발생하는 저비점 향의 회수에 대한 어려움과 가열에 의한 향의 손실에 대한 문제점을 해결할 수 있는 가능성을 제시하였다.

○ King과 Bott⁴⁰⁾는 초임계 유체를 사용하여 천연물질로부터 기능성 물질, 생리활성 물질, 약리성 물질을 추출하기 위한 조건을 제시하였고 목적 성분의 추출 조건에 대한 사업적 규모의 추출탑 설계를 위한 Design과 경제성을 제시하였다.

○ 최근 초임계 분리 기술을 이용한 새로운 응용분야는 생리활성 또는 기능성 물질들의 안정성과 효능을 증가시키기 위한 micro에서 nano size의 입자 제조와 생체 고분자를 사용한 micro-encapsulation 제조 기술⁴¹⁾이 의약품, 식품 산업분야에 응용되고 있다.

○ 초임계 이산화탄소를 사용하여 Fish에 있는 기능성 물질인 고도 불포화 지방산을 분리 정제하는 기술과 지질을 제거하여 Fish 농축 단백질을 제조하는 공정이 개발되어 수산분야의 초임계 추출 기술의 응용에 대한 전망이 밝다¹²⁻¹⁷⁾.

○ Bruner등⁴²⁾은 초임계 유체를 이용한 고도불포화 지방산을 고도로 정제할 수 있는 기술을 개발하여 이를 응용한 상업적 정제 기술의 개발에 대한 가능성을 제시하였다.

제 9 장 참고문헌

1. Hennekens, C. H., Buring, J. E. and Mayrent, S.S : Clinical and epidemiological data on the effects of fish oil in cardiovascular disease. In Omega-3 Fatty Acids in Health and Disease, R.S. Lees and M. Karel (Eds.). Marcel Dekker, Inc., New York, U.S.A., p.71(1990)
2. Dyerberg, J., Bang, H. O. and Stohersen, E. : Eicosapentaenoic acid and prevention of thrombosis and atherosclerosis. *Lancet*, 2, 117(1978)
3. Bang, H. O., Dyerberg, J. and Hjorne, N. : The composition of food consumed by Greenland Eskimos. *Acta Med. Scand.*, 69, 200(1976)
4. Bang, H. O., Dyerberg, J. and Sinclair, H. M. : The composition of the Eskimo food in North western Greenland. *Am. J. Clin. Nutr.*, 33, 2657(1980)
5. Kromhout, D. M., Bosschieter, E. B. and Coulander, C.: The inverse relation between fish consumption and 20-year mortality from coronary heart disease. *N. Eng. J. Med.* 312, 1205(1985)
6. Carroll, K. K.: Experimental and epidemiological evidence on marine lipids and carcinogenesis. In Omega-3 Fatty Acids in Health and Disease, R.S. Lees and M. Karel (Eds.). Marcel Dekker, Inc., New York, U.S.A., p99(1990)
7. Neuringer, M. and Connor, W. E. : n-3 fatty acids in the brain and retina : Evidence for their essentiality. *Nutr. Rev.*, 44, 285(1988)
8. Sin호, G. and Chandra, R. K. : Biochemical and cellular effect on fish and fish oils, *Pro. Food Nutr. Sci.*, 12, 371(1988)
9. 信夫 : いわし さば油からの EPA 分離技術と 利用. *食品工業*, 9下, 30(1990)
10. Rizvi, S.S.H., Daniels, J.A., Benado, A.L. and Zollweg, J.A.: Supercritical fluid extraction: Operation principles and modelong methods. *Food Technol.* 40, 55(1986)
11. Brunner, G.: Extraction of Caffeine From with Supercritical CO₂, *Proc. Int. Symp. on Supercritical Fluids*, 2, 691(1988).
12. Hardardottir I and Kinsella J.E.: Extraction of Lipid and Cholesterol from Fish Muscle with Supercritical Fluids, *J. of Food Science*, 53, 1656(1988).
13. Stay A. and Mollerup J.: Solubility of Fish Oil Fatty Acid Esters in Sub and Supercritical Carbon Dioxide, *JAOCS*, 70, 583(1993).
14. Yamaguchi K., Murakami M., Nakano H., Konosu S., Kokura T., Yamamoto H., Kosaka M. and Hata K.: Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Oils from Antarctic Krill, *J. Agric. Food Chem.*, 34, 904(1986).
15. Rizvi S.S., Chao R.R. and Liaw Y.J.: Concentration of Omega-3-fatty Acids from Fish Oil using Supercritical Carbon Dioxide, in Chap 5. at *Supercritical Fluid Extraction and Chromatography*, 89(1988).
16. Esquivel M.M., Bandarra N.M., Fontan I., Bernardo-Gil M.G., Batista I., Nunes M. and Empis J.A.: Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Sardine *Pilchardus* Oil, *LWT*, 30(7), 715(1997).

17. Chun, B.S. Kang, S.S. and Kim, B.J.: Recovery of High Unsaturated Fatty Acid from Squid Processing Wastes using Supercritical Carbon Dioxide Extraction Method, *J. Korean Fish. Soc.*, 32, 217(1999).
18. Chun, B.S., Yang, G.Y. and Wilkinson, G.T.: Mass Transfer for Alcohol Recovery in a Countercurrent Extraction Column using Supercritical CO₂, *Foods and Biotechnology*, 4, 174(1995).
19. Markk A. McHugh and Val J. Krukonis, "Supercritical Fluid Extraction : Principles and Practice", *Butter worths, second edition(1993)*
20. Francis, A. W., "Ternary Systems of Liquid Carbon Dioxide", *J. Phys.*
21. Schneider, G. M., Stahl, E., and Wilke, F.:"Extraction with Supercritical Gases",*Verlag Dhemie(1980)*
22. Irani, C.A. and Funk, E.W. : "DRD Handbood. Recent Development in Separation Science", *CRC Press, Boca Raton(1997)*
23. Johnson. k.,eds. : Supercritical fluids, in Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology. 3rd eds.,
24. Supercritical fluid extraction and chromatography techniques and Application. *AOCS, Symp.Ser., 366. Am. Chem.Soc., Washington, DC(1988)*
25. Penninger, J.M.L., Radozs, M., Mchugh, M.A. and Krukonis, V.J.,eds. : Supercritical Fluid Technology, *Proc. Tech. Proc.,3, Elsevier, Amaterdam(1985)*
26. Schneider, G. M., Stahl, E. and Wilke,G.,eds. : Extraction with Supercritical Gases, *Verlag Chemic, Deerfield Beach, FL(1980)*
27. Mchugh, M. and krukonis, V. : Supercritical Fluid Extraction Principles and Practice, *Butterworths, London(1986)*
28. Paulaitis, M.E., Penonger, J.M.L., Gray, Jr.R.D. and Davidson, P.,eds: Chemical Engineering at Supercritical Fluid Condition, *Ann Arbor Sci., The Butterworth Group(1983)*
29. Jhonston, D. and Penninger, J.M.L., eds. : Supercritical Fluid Science and Technology, *AOCS. Symp., 4.5, Am. Chem. Soc., Washington, DC (1989)*
30. Mchugh, M. and Krukonis, V. J : Supercritical Fluid, Encyclopedia for polymer Science and Engineering, *john Wiley, New York, Vol. 16 (1989)*
31. Compendium of Methods for the Determination of Toxic Organic Compounds in Ambient Air, Second Edition, Determination of Volatile Organic Compounds in Ambient Air Using Active Sampling Onto Sorbent Tube, *EPA, (1997)*
32. Air-pollution standard test method, The ministry of environment, *Republic of Korea notice No. 2000-138*
33. Hayase, F. and Kato, H. : Antioxidative components of sweet potatoes. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 30: 37. (1984)
34. Sinnhuber, R.O. and Yu, T.C. : The 2-thiobarbituric acid reaction, an objective measure of the oxidative determination occuring in fats and oils. *J. Jap. Soc. Fish Sci.*, 26: 259-267.(1977)
35. Kind, P. R. N. and King, E. J. : Estimation of phosphatase by determination

- of hydrolyzed phenol with aminoantipyrine. *J. clin. Patrol.* 7: 322-326. (1954)
36. Reitman, S. and Frankel, S. : A colorimetric method for determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. *Am. J. Clin. Pathrol.* 28: 56-61. (1963)
 37. Rossana R. Peralta, Mitsuya Shinmoda, and Yutaka Osajima. : Further Identification of Volatile Compounds in Fish Sauce. *J. Agric. Food Chem.* 44, 3606-3610 (1996)
 38. Y. J. Cha and K. R. Cadwallader. : Aroma-Active Compounds in Skipjack Tuna Sauce. *J. Agric. Food Chem.* 46, 1123-1128 (1998)
 39. Schults, W. G. and Randall J. M. : Liquid Carbon Dioxide for Selective Aroma Extraction, *Food Technology*, 24, 94 (1970)
 40. King, M. B. and Bott, T. R. : Extraction of Natural Products using Near-critical Solvent, *Glassgow, Univ. of Birmingham*, (1993)
 41. McHugh M. A. and krukonis V. J. : Supercritical Fluid Extraction (principles and practice), *2nd edition, Butterworth-Heinemann, 1944*
 42. Bruner, G. Rhia, V. : Separation of fish oil ethyl esters with supercritical carbon dioxide, *J. Supercritical Fluids*, 17, 55-64 (2000)
 43. Hardardottir, I. and J.E. Kinsella. : Extraction of lipid and cholesterol from fish muscle with supercritical fluids. *J. Food Sci.*, 53, 1656-1661. (1988)
 44. Feral Temelli. : Extraction of triglycerides and phospholipids from canola with supercritical carbon dioxide and ethanol. *J. food Sci.*, 57, 440-457.(1992)
 45. Liang, J.H. and A. Yeh. : Process conditions for separating fatty acid esters by supercritical CO₂. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 68. 687-693. (1991)
 46. Cocero, M.J. and L. Calvo. : Supercritical fluid extraction of sunflower seed oil with CO₂-ethanol mixtures. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 73, 1573-1578.(1996)

주 의

1. 이 보고서는 해양수산부에서 시행한 “해양한국발전프로그램 (KSGP) 연구개발사업”의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 해양수산부에서 시행한 “해양한국발전프로그램(KSGP)연구개발사업”의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.
4. 이 보고서와 관련된 문의사항은 해양수산부 해양정책과(전화 : 02 - 3148 - 6514)로 하시면 됩니다.