creative commons

COMMONS DEED

저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:

저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.

비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.

변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 이용허락규약(Legal Code)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

Disclaimer

dCollection

[UCI]I804:24011-200000241462

2011 년 2 월

석사학위논문

효소반응과 초임계 유체 추출을 활용한 비린취 제거 및 추출 후 영양성분의 변화

조선대학교 대학원

화 학 공 학 과

류 지 순

효소반응과 초임계 유체 추출을 활용한 비린취 제거 및 추출 후 영양성분의 변화

Use of enzyme reaction and supercritical extraction for the removal of fishy odor and composition change of aldehyde and fatty acid in anchovy

2011 년 2 월 25 일

조선대학교 대학원

화 학 공 학 과

류 지 순

효소반응과 초임계 유체 추출을 활용한 비린취 제거 및 추출 후 영양성분의 변화

지도교수 이 중 헌

이 논문을 공학 석사학위신청 논문으로 제출함.

2010 년 10 월

조선대학교 대학원

화 학 공 학 과

류 지 순

류지순의 석사학위논문을 인준함

위원장 조선대학교 교수 차 월 석 (인)
위 원 조선대학교 교수 신 현 재 (인)
위 원 조선대학교 교수 이 중 헌 (인)

2010 년 11 월

조선대학교 대학원

목 차

LIST OF FIGURES III

LIST OF TABLES V

ABSTRACT VII

제 1 장. 서론 . . . . . א

1. 초임계 유체 추출의 원리 . . . . . א

2. Lipase mechanism . . . . . ב

3. 멸치의 성분 . . . . . ג

4. 냄새성분 . . . . . ד

제 2 장. 실험 재료 및 방법 . . . . . יא

1. 실험 재료 및 기기 . . . . . יא

가. 실험 재료 . . . . . יא

나. 실험 기기 . . . . . יא

2. 초임계 유체 추출 방법 . . . . . יג

3. Vent gas 성분 분석 방법 . . . . . יג

4. Aldehyde 계 성분 측정 방법 . . . . . יד

5. Fatty acid 성분 측정 방법 . . . . . יד

제 3 장. 실험 결과 . . . . . טז

1. 시료 사진 비교 ..... טז
가. 시료 건조 전의 추출 전 · 후 사진 비교 ..... טז
나. 시료 건조 후의 추출 전 · 후 사진 비교 ..... טז
2. 초임계 반응 온도에 따른 결과 ..... יח
가. 추출 전 · 후 후각 결과 ..... יח
나. 추출 전 · 후 vent gas 분석 결과 ..... כב
다. 추출 전 · 후 aldehyde 계 성분 분석 결과 ..... כו
3. 초임계 반응 압력에 따른 결과 ..... ל
가. 추출 전 · 후 후각 결과 ..... ל
나. 추출 전 · 후 vent gas 분석 결과 ..... לג
다. 추출 전 · 후 aldehyde 계 성분 분석 결과 ..... לו
4. 초임계 반응 보조용매 비율에 따른 결과 ..... לט
가. 추출 전 · 후 후각 결과 ..... לט
나. 추출 전 · 후 Vent gas 분석 결과 ..... מב
다. 추출 전 · 후 aldehyde 계 성분 분석 결과 ..... מה
5. 초임계 반응 추출물의 fatty acid 성분 분석 결과 ..... מח
가. Lipase가 없는 경우 ..... מח
나. Lipase가 있는 경우 ..... מט
제 4 장. 결 론 ..... נג
참고문헌 ..... נה

List of Figures

Figure 1. State transition diagram [12]. ..... ו

Figure 2. Change of CO_2 state in supercritical condition [13]. ..... ו

Figure 3. Triacylglycerol hydrolysis reaction [15]. ..... ח

Figure 4. Supercritical fluid extraction SFE system. a) Diagram of a SFE system, b) Photo of a SFE system . ..... יב

Figure 5. Diagram of supercritical fluid extraction procedure. ..... טו

Figure 6. Comparison of before and after the extraction. ..... יז

Figure 7. Change of vent gas composition with reaction temperature (without lipase). a: 80 bar, 1:1, b: 100 bar, 1:2 . —: anchovy powder(control), —: 40 ℃, —: 60 ℃, —: 80 ℃ ..... כג

Figure 8. Change of vent gas composition with reaction temperature (with lipase). a: 80 bar, 1:2, b: 100 bar, 1:2 . —: anchovy powder(control), —: 40 ℃, —: 50 ℃, —: 60 ℃ ..... כה

Figure 9. Changes of aldehyde with reaction temperature. a) without lipase, b) with lipase ..... כט

Figure 10. Change of vent gas composition with reaction pressure (without lipase). a: 40 ℃, 1:2, b: 80 ℃, 1:2. —: anchovy powder (control), —: 80 bar, —: 100 bar. ..... לד

Figure 11. Change of vent gas composition with reaction pressure (with lipase). a: 60 ℃, 1:1, b: 60 ℃, 1:2. —: anchovy powder

(control), —: 80 bar, —: 100 bar. ..... לה

Figure 12. Changes of aldehyde with reaction pressure. a) without lipase, b) with lipase. ..... לח

Figure 13. Change of vent gas composition with solvent ratio (without lipase). a) 60 ℃, 80 bar, b) 80 ℃, 80 bar. —: anchovy powder (control), —: 1:1, —: 1:2. ..... מג

Figure 14. Change of vent gas composition with solvent ratio (with lipase). a) 40 ℃, 100 bar, b) 60 ℃, 100 bar. —: anchovy powder (control), —: 1:1, —: 1:2. ..... מד

Figure 15. Change of aldehyde with solvent ratio. a) without lipase, b) with lipase. ..... מז

Figure 16. Fatty acid composition changes after SFE. a) without lipase, b) with lipase ..... נא

List of Tables

Table 1. Critical conditions of various solvent [14] ..... ז

Table 2. Nutrient composition of anchovy [16, 17] ..... ט

Table 3. Main odor components in dried fishes [18] ..... י

Table 4. Changes of odor with SFE with different temperature (without lipase) ..... יט

Table 5. Changes of odor with SFE with different temperature (with lipase) ..... כא

Table 6. Comparison of aldehyde area and percent with different reaction temperature ..... כח

Table 7. Changes of odor with different reaction pressure (without lipase) ..... לא

Table 8. Changes of odor with different reaction pressure (with lipase) ..... לב

Table 9. Comparison of aldehyde area and percent with different reaction pressure ..... לז

Table 10. Changes of odor with different solvent ratio (without lipase) ..... מ

Table 11. Changes of odor with different solvent ratio (with lipase) .. מא

Table 12. Comparison of aldehyde area and percent with different

solvent ratio ..... מו

Table 13. Comparison of fatty acid composition ..... נ

ABSTRACT

Use of enzyme reaction and supercritical extraction for the removal of fishy odor and composition change of aldehyde and fatty acid in anchovy

Ryu, Ji-Soon
Advisor: Prof. Lee, Jung-Heon, Ph.D.
Department of Chemical Engineering
Graduate School of Chosun University

Since marine products, seaweeds, anchovy, and fish have their own stinky odor, people sometimes hesitate to eat them. Stinky odors are related to anchovy odor, microbial spoilage odor, and oxidized odor. The chemical compounds associated with stinky odor are mostly aldehydes, ketones and alcohols derived from the unsaturated fatty acids in anchovy. During storage the anchovy deteriorate through autolytic and microbial reactions.

In this research, the supercritical extraction process with lipase treatment has been adopted to remove stinky odor of anchvy. With the change of temperature, pressure, and changes of nutrient compositions the odorous compound were detected with GC/MS. When the supercritical extraction process without lipase was applied to the odoriferous sample, aldehyde concentration was decreased with the increase of temperature and pressure. The optimal

temperature, pressure and rate ratio were 80 ℃, 120 bar, and 1:1, respectively. With lipase treatment, the optimal temperature was decreased to 60 ℃, pressure was 120 bar, and rate ratio was 1:2. Without lipase treatment, fatty acid concentration was decreased to 80 ℃, 80 bar, 1:2. With lipase treatment, the optimal conditions were 50 ℃, 100 bar, 1:2. Therefore, the result indicates that the condition without the lipase treatment is better than with lipase treatment for the removal of anchovy stinky odors.

Key word: Supercritical Fluid CO_2, Odor, Aldehyde, Fatty acid, GC/MS, Lipase

제 1 장. 서론

1. 초임계 유체 추출의 원리

초임계 유체란 임계 온도와 압력 이상에 존재하는 유체를 말한다. 물질은 온도와 압력의 변화에 따라 고체, 액체, 기체라고 하는 3 상을 갖게 되며, 액체와 기체 두 상태를 서로 분간할 수 없게 되는 임계온도와 압력 이상에서는 온도, 압력의 변화에 의해 더 이상 고체, 액체, 기체로 변화하지 않은 제 4 의 상태, 초임계 상태에 이르게 된다 (Fig. 1). 초임계 상태에 있는 유체를 초임계 유체라 하며, 확산계수는 액체의 확산계수보다 약 100 배 정도 높은 확산계수를 갖고, 점도는 기체의 점도에 가까우며, 밀도는 액체의 밀도에 가까운 상태로 물리화학적인 특성이 액체와 기체 중간 값을 가진다. 이 값들은 온도와 압력을 변화 시켜 값을 변화 시킬 수 있다. 높은 용해도와 빠른 물질 전달 속도를 나타남으로서 추출에 있어 기존용매 추출보다 우수한 특성을 가진다. 용매의 용해력은 용매의 밀도와 밀접한 관계를 갖고 있기 때문에 액체와 비슷한 밀도를 갖는 초임계 유체도 액체 용매와 마찬가지로 액체나 고체를 용해하는 능력을 갖게 된다. 따라서 초임계 유체는 온도와 압력 조절만으로도 물성 조절이 용이하므로 반응과 분리 등의 공정에 이용하면 단일 용매로 여러 종류의 액체 용매에 상응하는 용매 특성을 얻을 수 있다. 또한 초임계 유체는 점도가 작고 추출시 침투성이 좋아 추출 효율이 향상되어 확산계수가 크므로 평형에 빨리 이른다 [1, 2].

초임계 유체 추출의 주용매에 사용되는 이산화탄소는 31.1℃, 72.8 atm 의 낮은 임계점을 가지고 있다 (Table 1). 또한, 무독성과 비착화성과 같은 훌륭한 물리적 성질을 지니고 있고, 폐기물의 양이 극히 적으며, 물질만을 손상없이 고순도로 얻을 수 있고, 추출 대상 물질과의 반응성과 부식성이 없다는 뛰어난 장점을 지니고 있다 [1]. 또한 상온에서 기체상태로 존재하기 때문에 잔존 용매의 문제가 유발되지 않는다. 이산화탄소는 비극성을 지닌 물질로 비극성 물질이나, 극성이 낮은 물질의 추출에 다양하게 활용할 수 있다는 것이다. 단점은 극성 성질을 갖는 용질에 대한 용해력은 일정한 한계점에 도달하거나 용질이 시료의 담체에 강하게 결합되어 있기에 매우 큰 극성을 지닌 화합물이나 이온적 화합물에는 적합하지 않다는 점이다. 하지만 보조용매를

이용하므로서 용해력 제한을 보완할 수 있다. 보조용매 사용시 초임계 유체의 용해력이 증가하는 이유는 용질과 보조용매 사이에 강한 결합이 형성되고, 보조용매에 의하여 초임계 유체의 밀도가 증가하기 때문이다. 이때 보조용매로 에탄올이 많이 이용되나 유기용매 추출 효과가 가미 될 수 있으니 높은 농도의 에탄올을 이용하지 않은 것이 좋다 [3].

초임계 유체 추출 공정 조작변수인 온도, 압력의 변화 이외에 추출 시간, 용매상의 유속, 시료의 입자크기, 입자들의 분포 등을 고려할 필요가 있다. 일반적인 추출 공정처럼 초임계 추출 공정에서도 내부물질 이동의 과정이 추출 공정의 율속단계[1]가 될 때 시료 입자 크기와 그 분포는 물질 확산경로의 길이와 관계 있어 추출 효율에 상당한 영향을 줄 수 있다고 보고된 바 있다. 만약 외부물질 전달 혹은 평형상태가 율속단계가 될 경우에는 입자의 크기가 추출 속도에는 영향을 줄 수 없다고도 하였다. 즉, 외부물질전달계수가 율속단계일 때는 추출 용매의 유속이 추출 속도를 좌우하게 되고 내부물질 전달계수가 율속단계일 때는 추출 용매의 영향력은 거의 무시할만하여 오직 추출 물질의 이동 경로 길이에 영향을 받게 된다.

2. Lipase mechanism

Lipase 는 에스테르화 반응과 가수분해 반응의 연구가 꾸준히 진행되고 있다. Lipase 의 기본 반응인 가수분해 반응으로 지방과 물이 만나 lipase 의 촉매 반응에 의해 fatty acid 와 glycerol 을 만들게 된다 (Fig. 3) [4]. 이는 기름분해 공정의 생촉매 역할을 하게 된다. 또한 광학활성물질의 선택적 분리 등을 가능하게 하는 촉매로 사용되며, 최근에는 바이오디젤 생산의 촉매로도 사용되는 등의 산업적으로 유용하게 사용된다고 보고된 바 있다 [5]. 초임계 유체 추출 공정에서 냄새 성분 중 하나인 fatty acid 의 생성 정도를 보기 위해 본 연구를 진행하였다.

---

[1] 율속단계 (rate determining step, 律速段階)

속도결정단계로 다단계 반응에 있어서 가장 느린 속도의 반응 단계를 말하며, 거의 대부분의 화학반응은 다단계의 여러 가지의 반응 조합이며, 그 중 최저속도의 단계에서 전체 속도가 결정된다.

3. 멸치의 성분

단백질은 근육, 내장, 혈액, 골격, 피부 등의 조직이나 효소, 호르몬, 면역항체 등의 생리기능을 유지하고 조절하는 물질을 만들 때 구성성분이 되는 물질로 약 20 종의 아미노산으로 구성되며, 소화효소에 의해 아미노산으로 분해되어 흡수된다. Fatty acid 의 경우 섭취하는 지질의 종류에 따라 다른 생리적 현상을 나타내며, β-산화를 받아 TCA cycle 로 들어가 대사되어 1 g 당 9 ㎉의 에너지를 생산된다. Linoleic acid 와 같은 polyunsaturated fatty acid 는 지방 합성을 억제하고 저밀도 지단백질을 감소시키고, 고밀도 지단백질을 증가시키는 작용을 가지고 있다 [6].

멸치는 우리나라에서 많은 어획량을 자랑하고 있고, 자원이 풍부하다. Table 2 와 같은 성분들을 함유하고 있다. 생 멸치와 건조시킨 큰 멸치, 중 멸치, 잔 멸치를 비교해 보았다. 생 멸치에 비해 건조한 멸치에서 에너지, 단백질, 회분, 무기질의 함유량이 높다. 에너지, 단백질은 2 ~ 3 배 높음을 알 수 있고, 지질은 1.5 ~ 2 배 높고, 회분은 4 ~ 5 배 높다. 무기질의 경우 칼슘은 2 ~ 4 배 더 많은 것을 알 수 있고, 철은 2 ~ 5 배 높음을 알 수 있다. 나트륨과 칼륨은 3 배 높음을 알 수 있다. 콜레스테롤의 경우 생 멸치에는 존재하지만, 건조한 멸치에는 존재하지 않는다. 지질의 경우 비슷한 양이 존재하고 fatty acid 는 건조한 멸치에서 존재하지 않음을 알 수 있다. 하지만, 국립수산과학원의 자료에 의하면 멸치에 지질이 100 g 당 5.4 g 이 있으며, saturated fatty acid 30.6%, monounsaturated fatty acid 14.2%, polyunsaturated fatty acid 55.2%로 구성되어있다고 기술되어 있다 (Table 2) [6].

본 연구에서는 건조한 멸치를 이용하여 냄새 성분을 제거하기 위해 진행하였다.

4. 냄새성분

멸치는 단백질, 철분, 비타민, 및 칼슘뿐 아니라 나이아신, 핵산과 polyunsaturated fatty acid 등을 다량 함유하고 있어 성장기의 어린이, 임산부, 노약자는 물론 현대인에 필요한 우수한 수산 식량 자원이다. 이러한 멸치의 어취는 어획 후 발생되는 아민류 중 암모니아, dimethylamine (DMA), 그리고 trimethylamine (TMA)가 가장 많은 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 이러한 어취 유발물질인 DMA 와 TMA 의 분석은 대부분 비색법이 사용되고 있으나 gas chromatography (GC)로 분석했을 때, 효율성이 높다는 연구도 보고 되었다 [7, 8, 9]. 또한 aldehyde 의 종류로 isobutylaldehyde, isovalderaldehyde, isovaleraldehyde, *n*-butylaldehyde 가 있으며, fatty acid 의 종류로는 myristic acid, palmitic acid, palmitoleic acid 이 있다. 이들은 GC 나 gas chromatography mass spectrometer (GC/MS)로 분석이 가능하다.

해조류는 자원이 풍부하고, 독특한 향미성분을 많이 함유 하고 있다. 해조류의 냄새 성분은 휘발성 성분으로 확인 할 수 있다 [10]. 그 함량은 계절, 생육장소 등에 따라 영향을 받는다. 식용 해조의 향기 성분으로는 해조를 수증기로 증류해서 분석하여 acrylic cid 외에 짧은 사슬의 fatty acid, alkanes, terpenes 등이 동정되었다. 해조류의 휘발성 성분은 함황화합물, 유기산류, aldehyde 류, 알콜류, 페놀류, 탄화수소류 등을 들 수 있다. 다시마의 경우 음식물의 감미료로 이용되는 mannitol 과 아미노산의 일종으로 향미의 상승제인 glutamic acid 가 다량 함유되어 있고, 그 외에 myristic acid, palmitic acid, oleic acid 및 cubenal 등의 향미성분을 포함하고 있다 (Table 2)[11]. 냄새성분들은 단일 물질로서 해조류가 살아 있을 때 단순하게 냄새 만을 내는 성분으로 함유되어 있는 것이 아니며, 휘발성을 지닌 저분자의 성분들이 생체 중에서나 건조 및 자숙 등 각종 가공 중에 무수히 많은 성분들이 복합적으로 내는 것이다. 또, 이들 성분 중에는 맛, 항균이나 여러 가지 활성을 가진 성분들도 포함된다.

본 연구에서는 멸치의 냄새 성분인 aldehyde 와 fatty acid 를 분석하기로 하였다.

본 연구에서는 초임계 유체 추출법을 이용한 비린 냄새를 제거 하여 단일공정의 상품을 다단계 공정을 통해 고급 식품화 하면서 고부가가치 산업에 적용하고자 하는 목적으로 멸치의 비린 냄새인 aldehyde 와 fatty acid 를 생 멸치가 아닌 건조된 멸치를 이용하여 냄새 성분을 제거 하고, lipase 의 영향으로 fatty acid 와 aldehyde 의 생성을 보기 위해 진행하였다.

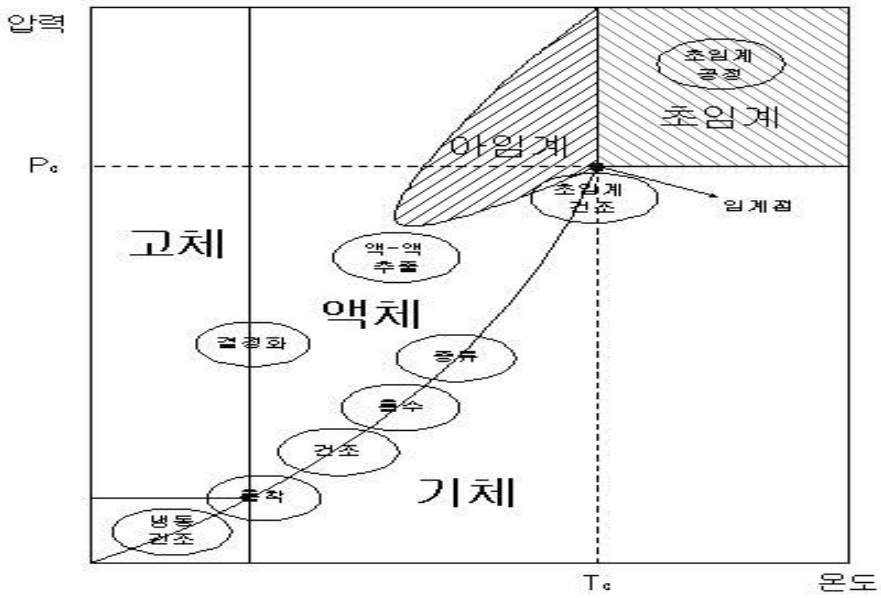
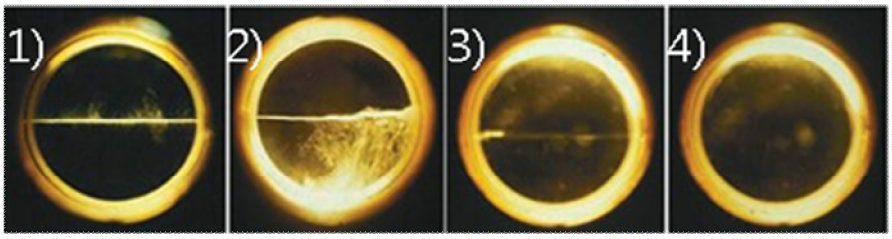


Figure 1. State transition diagram [12].



1) 반응 용기의 온도와 압력이 높지 않으면 이산화탄소는 액체와 기체가 뚜렷한 경계를 두고 존재한다.
2) 온도와 압력을 높이면 처음에는 액체 이산화탄소가 끓기 시작한다.
3) 온도와 압력이 계속 높아지면 액체와 기체를 구분하는 경계가 희미해진다.
4) 온도와 압력이 액체와 기체를 구분할 수 없는 임계점을 넘어서면 초임계 상태가 돼 경계가 사라진다.

Figure 2. Change of CO_2 state in supercritical condition [13].

Table 1. Critical conditions of various solvent [14]

Solvents	Critical Temperature (℃)	Critical Pressure (atm)
Carbon Dioxide	31.1	72.8
Ethane	32.3	48.2
Ethylene	9.3	49.7
Propane	96.7	41.9
Propylene	91.9	45.6
Cyclohexane	280.3	40.2
Isopropanol	235.2	47
Benzene	289	48.3
Toluene	318.6	40.6
p-Xylene	343.1	34.7
Chlorotrifluoromethane	28.9	38.7
Trichlorofluoromethane	198.1	43.5
Ammonia	132.5	111.3
Water	374.2	217.6

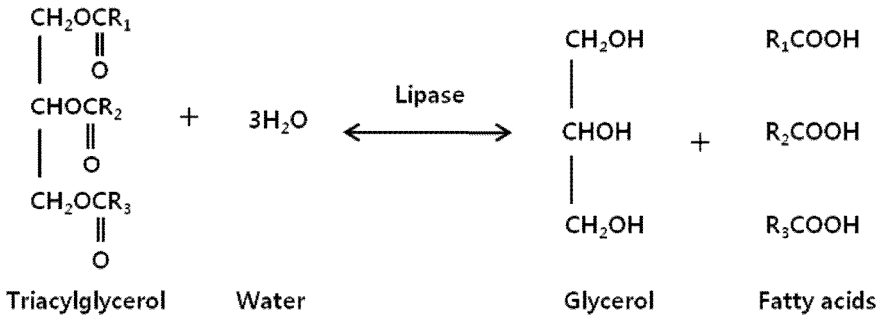


Figure 3. Triacylglycerol hydrolysis reaction [15].

Table 2. Nutrient composition of anchovy [16, 17]

Content		Row	Large	Medium	Larvae
	Energy	114	303	232	239
	Moisure	74.8	26.2	35	36.8
	Protein	17.7	47.4	38.9	42.4
	Fat	4.1	9.8	5.1	6
	Ash	3.2	14.1	19.7	13.9
Carbonydrates	Nonfibrous	0.2	2.5	4.8	0.9
	Fiber	0	0	0	0
Minerals	Calcium	509	1905	1290	902
	phosphorus	421	1429	1461	977
	Iron	2.9	16.2	15.9	5.5
	Sodium	240	878	869	874
	Potassium	370	1140	1160	1150
Vitamins	Retind equivalent (A)	38			
	Retinol (A)	38			
	β-Carotene (A)	0	0	0	0
	Thiamin (B_1)	0.04	0.12	0.11	0.07
	Riboflavin (B_2)	0.26	0.11	0.1	0.08
	Niacin	8.8	13.3	11.6	5.4
	Ascorbic acid (C)	1	0	0	0
Cholesterol		65	–	–	–
Lipid		6	9.8	5.1	6
Total of fatty acid		4.23	–	–	–
Saturated fatty acid		1.48	–	–	–
Unsaturated fatty acid	Monounsaturated fatty acid	1.19	–	–	–
	Polyunsaturated fatty acid	1.56	–	–	–

Per 100 g edible portion.

Table 3. Main odor components in dried fishes [18]

Kind	Odor component
Anchovy	ammonia, dimethylamine, trimethylamine, methylamine, ketone, isobutylaldehyde, isovalderaldehyde, isovaleraldehyde, *n*−butylaldehyde, myristic acid, palmitic acid, palmitoleic acid
Salmon	methylamine, dimethylamine, diethylamine
Squid	2−hydroxy isopropylamine, *n*−methyl pyrroline
Dried pollack	acetamide, 2−hydroxy isopropylamine, piperidine, *n*−methyl pyrroline
Shrimp	methylamine, 2−hydroxy isopropylamine, *n*−methyl pyrroline, cyclo hexylamine
marineplant	isobutylaldehyde, isovalderaldehyde, formic acid, acetic acid, propionic acid, butyric acid, valeric acid, myristic acid, palmitic acid, linolenic acid

,

제 2 장. 실험 재료 및 방법

1. 실험 재료 및 기기

가. 실험 재료

멸치 분말은 완도바다식품에서 받은 것으로 멸치를 자연건조 시킨 후 분말화한 것을 사용하였다. 그리고 실험 조건인 보조용매로 사용하기 위해 주정을 통해 15% 에탄올을 제조하였다. Fat 을 fatty acid 로 분해하는 lipase 효소는 *Candida rugosa* 에서 유래한 Sigma 제품을 15 mg 씩 사용하였다. 그리고 초임계 추출의 주 용매로는 고순도 액체 CO_2를 사용하였다.

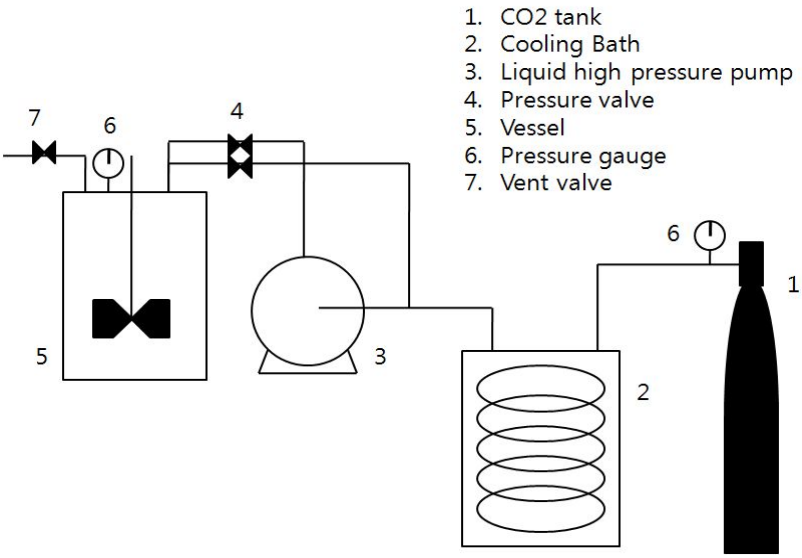
나. 실험 기기

초임계 추출 장치는 AID Eng. (Korea)의 SC-AMP 500A 를 사용하였다. 그리고 압력을 더 높여주기 위해 Lab Alliace 사의 prep. pump 를 사용하였다 (Fig. 4).

초임계 추출을 통해 얻은 vent gas 의 성분을 알아보기 위해 GC 를 통해 분리하였다. 이때, GC 는 SHIMADZU Corp. (Japan)의 GC-2010 을 사용하였고, auto sampler 를 사용하지 않고, gas 전용 syringe 5MDR-LL-GT 를 이용하여 주입하였다.

초임계 추출을 통해 얻은 시료를 동결 건조 시킨 후 - 20 ℃에서 보관하였고, 그 시료의 향기 성분을 분석하기 위해 GC/MS 를 통해 분리, 동정하였다. 이때 GC/MS 는 SHIMADZU Corp. (Japan)의 GCMS-QP2010cn Plus 를 사용하였다. Auto sampler 를 이용하여, head space 을 분리, 동정하였고, liquid injection 을 이용해 fatty acid 성분을 분리, 동정하였다.

a)



b)

Figure 4. Supercritical fluid extraction SFE system. a) Diagram of a SFE system, b) Photo of a SFE system .

2. 초임계 유체 추출 방법

건조하여 분쇄한 멸치 분말을 30 g 에 보조용매로 15 % 에탄올을 30 g, 60 g 을 측정하여 vessel 에 넣어준다. 그리고 lipase 효소를 넣어 줄 경우 15 mg 측정하여 함께 넣어준다. 그리고 vessel 을 본체에 압력이 새어나가지 않게 고정을 시켜주고, valve 를 점검한다. 그리고 초임계 유체 추출 장치 기기를 켠 후, 조건 온도로 먼저 올려준다. 조건 온도가 설정이 되면, 조건 압력을 설정해준다. 그리고 추출 시간이 지나면 vent valve 를 통해 vent gas 를 일부 수집하고, 남은 내부 압력을 해소시킨다. 그리고 완전 해소되면 다시 vessel 과 기기를 분리한다. 추출 시료를 확인 후 수거 한다. 그리고 기기는 증류수를 이용해 세척한다 (Fig. 5).

이번 실험을 통해 조건 압력은 80 bar, 100 bar, 120 bar 로 설정하였다. 조건 온도는 lipase 효소를 넣지 않을 경우 40 ℃, 60 ℃, 80 ℃로 설정하였고, lipase 효소를 넣어 줄 경우 40 ℃, 50 ℃, 60 ℃로 설정하였다.

3. Vent gas 분석 방법

일부 수집한 vent gas 를 GC 로 측정하였다. GC 의 실험 조건은 다음과 같다. Column 은 DB-5ms(320℃, 60.0m, 0.25 ㎜ ID, 0.25 ㎛)를 사용한다. 100 ℃에서 시작하여 hold time 으로 5 분, rate 를 15 로 설정하여 250 ℃까지 올려주고 hold time 으로 10 분으로 설정한다. SPL1 의 온도는 250 ℃이고, injection mode 는 split mode 로 설정하였다. FID1 의 온도는 290 ℃이고, makeup gas 는 N_2/Air 이며, 유속은 30 ml/min, H_2 의 유속은 40 ml/min 이고, air 의 유속은 400 ml/min 으로 설정하였다. 또한 auto sampler 를 사용하지 않고, gas 전용 syringe 인 5MDR-LL-GT 을 이용하여 주입하였다.

4. Aldehyde 계 측정 방법

추출 시료는 건조기를 통해 분말로 건조시켰다. 건조 된 시료들을 head space 용 vial 에 500 mg 씩 넣어 주었다. 그리고 시료들을 100 ℃에서 20 분간 교반을 거친 후 그 vapor 를 측정하였다.

GC/MS 의 실험 조건은 다음과 같다. Column 은 Rtx-5MS (0.25 μm, 60.0 m, 0.25 m)를 사용하였고, column oven temp. 는 100 ℃, injection temp.는 250 ℃로, jection mode 는 split mode 로 설정하였다. Column 의 온도 조절은 100 ℃에서 시작하여, hold time 으로 5 분, rate 15 로 250 ℃까지 올린 후 250 ℃에서 hold time 으로 4 분을 설정하였다. 그리고 MS 에서 ion source temp.와 interface temp.는 250 ℃로 설정하고, solvent cut time 은 2 분, 측정하고자 하는 분자량의 범위는 40 ~ 350 m/z 로 설정하였다.

5. Fatty acid 측정 방법

식품공전을 토대로 시료 100 mg 에 0.5N NaOH in methanol 을 4 ml 첨가하여 80 ℃에서 10 분간 반응을 시킨다. 그 다음 14 % BF_3 5 ml 를 첨가하여 80 ℃에서 2 분간 반응시킨 후 heptane 5 ml 를 첨가한 후 80 ℃에서 1 분간 반응 시킨 후 시료를 식힌다. 과포화상태가 된 NaCl 을 첨가하여 heptane layer 를 1 ml 분리 한다. 그리고 탈수제인 Na_2SO_4 를 첨가한 후, filtering 한 후 GC/MS 를 이용하여 분석을 한다. 이때 GC/MS 의 실험 조건은 다음과 같다.

Column 은 Rtx-5MS(0.25 μm, 60.0 m, 0.25 m)를 사용하였고, column oven temp.는 185 ℃, injection temp.는 250 ℃이고, injection mode 는 split mode 로 설정하였다. Column 의 온도 조절은 185 ℃에서 시작하여, hold time 으로 1 분을 설정하고, rate 는 3 으로 230 ℃까지 올린 후, 다시 rate 3 으로 250 ℃까지 한 차례 더 올린 후 250 ℃에서 hold time 으로 10 분을 설정하였다. 그리고 MS 에서 ion

source temp.와 interface temp.는 250 ℃로 설정하고, solvent cut time 은 7 분, 측정하고자 하는 분자량의 범위는 40 ~ 700 m/z 로 설정하였다.

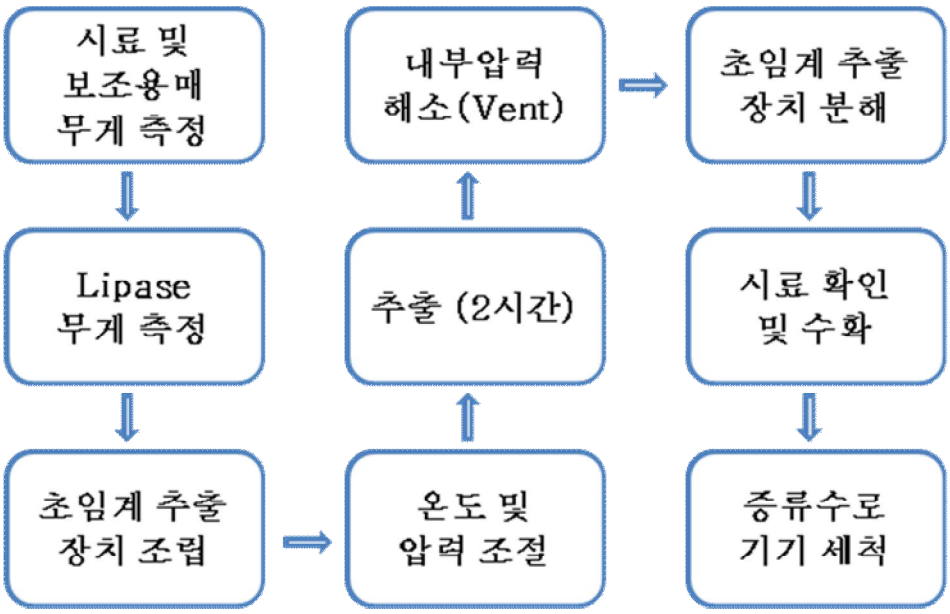


Figure 5. Diagram of supercritical fluid extraction procedure.

제 3 장. 실험 결과

1. 시료 사진 비교

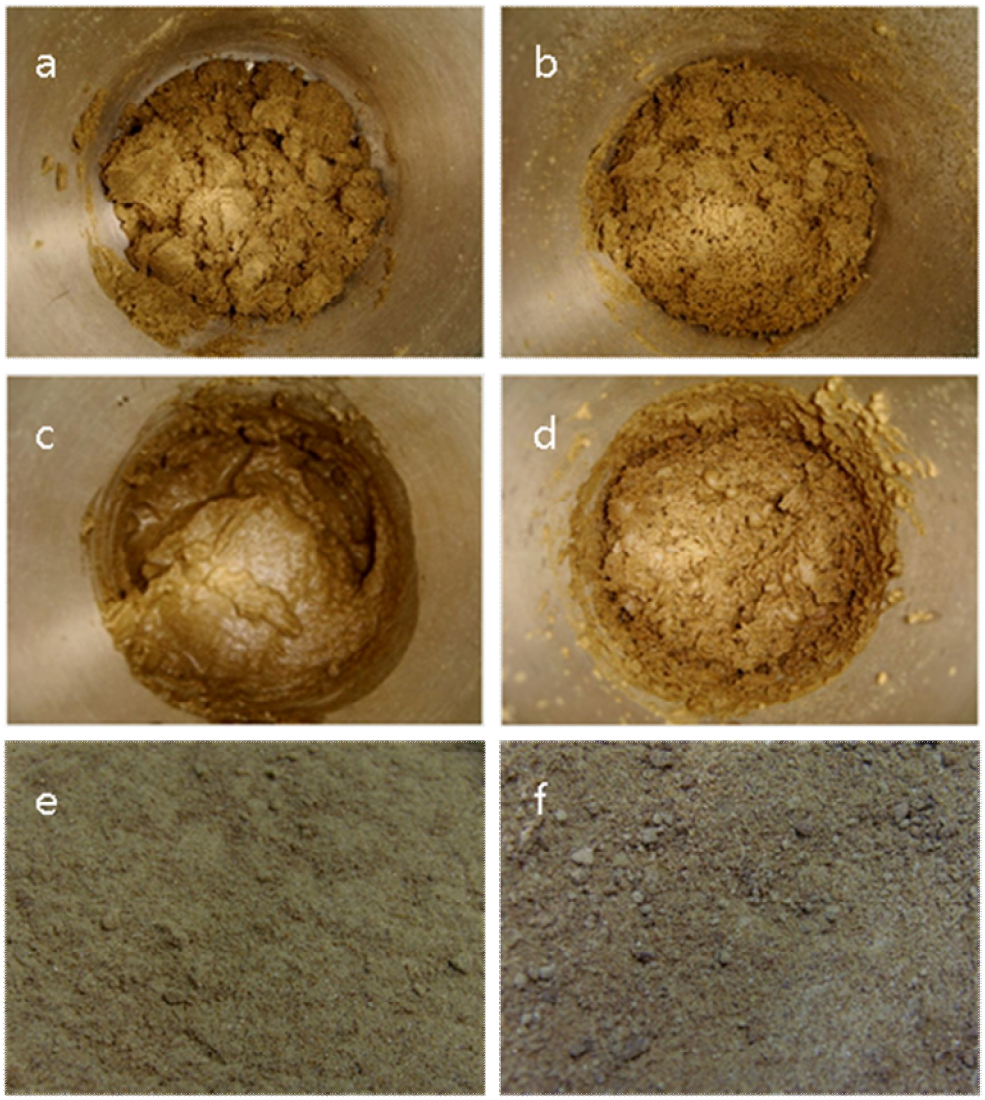
가. 시료 건조 전의 추출 전 · 후 사진 비교

시료에 에탄올을 넣은 상태의 추출 전과 후의 사진을 비교한 것이다. 추출 전의 상태에서 1:1 의 비율에서는 처음에 조금씩 뭉쳐지는 모양을 나타내고, 추출 후의 상태에서는 뭉쳐졌던 덩어리가 부서진 상태로 변하였다. 1:2 의 비율에서 추출 전의 상태는 걸쭉하게 반죽이 된 것 같은 상태였고, 추출 후의 상태에서는 생크림을 뜨는 것 같은 부드러운 느낌임 알 수 있었다 (Fig. 6).

나. 시료 건조 후의 추출 전 · 후 사진 비교

추출 조건은 60 ℃, 80 bar, 15 % 에탄올: sample = 1: 1, 2 시간으로 하였다. 추출 전과 후를 비교하였을 때 입자의 크기, 색깔, 냄새 등에서 차이를 보였다.

입자크기 같은 경우는 뭉쳐져 있던 것을 파쇄하는 것으로 파쇄기의 종류가 같다고 가정하에 비교하였을 때, 추출 전보다 추출 후의 입자의 크기가 커졌다. 색의 변화는 비슷한 색에서 조금 진해진 정도임을 알 수 있다. 냄새의 변화는 처음보다 나아졌다는 것을 후각적으로뿐만 아니라 aldehyde 계의 변화에서도 알 수 있다. 냄새의 변화에 대한 결과는 각 각의 독립변수에 대한 다음 절에서 설명할 것이다 (Fig. 6).



a) Before extraction rate ratio of 1:1. b) After extraction rate ratio of 1:1.
c) Before extraction rate ratio of 1:2. d) After extraction rate ratio of 1:2.
e) Before extraction anchovy powder. f) After extraction and dry anchovy powder.

Figure 6. Comparison of before and after the extraction.

2. 초임계 반응 온도에 따른 결과

가. 추출 전 · 후 후각 결과

후각 결과의 경우 관능평가 설문조사를 통해 “ ‘+’ 가 적을 수록 비린취가 적다. ‘+’ 가 많은 수록 비린취가 심하다.” 로 표시하였다.

Lipase 가 없는 경우는 온도가 올라갈수록 비린취가 나아졌다. 여기서 40 ℃에서 60 ℃로 올라간 경우는 에탄올의 냄새가 줄었다고 볼 수 있었다. 60 ℃에서 80 ℃로 올라간 경우는 고온의 영향으로 특이한 비린 냄새와 구수한 냄새가 함께 나서 더 나은 냄새라고 생각되었다. 그리하여 80 ℃에서 비린취가 상대적으로 나아졌다는 설문 결과를 얻을 수 있었다 (Table 3).

Lipase 가 있는 경우, 온도에 따라 비린취가 비슷하거나 감소한 것으로 볼 수 있다. 80 bar, 1:2 의 조건에서는 온도가 증가하면서 비린취가 상대적으로 더 심해지지만, 100 bar 의 경우는 상대적으로 비슷하거나 낮아진 것으로 보여진다. 또한 120 bar, 1:1 과 1:2 의 조건에서는 온도가 올라가도 비린취는 비슷한 결과를 보여준다. 추출 전보다는 비린취가 나아졌다는 일관성은 없지만, 60 ℃에서 비린취가 상대적으로 가장 좋아졌다는 설문 결과를 얻을 수 있었다 (Table 4).

Table 4. Changes of odor with SFE with different temperature (without lipase)

Anchovy powder(control)		Before	0
1:1		Before	++++
1:2		Before	++++++
T (℃)	P (bar)	Rate ratio	Result
40	80	1:1	+++++
60	80	1:1	++
80	80	1:1	+
40	80	1:2	++++++
60	80	1:2	++++
80	80	1:2	+
40	100	1:1	++++
60	100	1:1	++
80	100	1:1	+
40	100	1:2	++++
60	100	1:2	++++++
80	100	1:2	+
40	120	1:1	+++
60	120	1:1	+++
80	120	1:1	+
40	120	1:2	+++
60	120	1:2	++++
80	120	1:2	+

* Zero sign indicates no odors, decrease in the (+) sign indicates – moderate odors, increase in the (+) sign indicates – stinky odors.

Table 5. Changes of odor with SFE with different temperature (with lipase)

Anchovy powder(control)		Before	0
1:1		Before	++++
1:2		Before	++++++
T (℃)	P (bar)	Rate ratio	Result
40	80	1:1	++
50	80	1:1	++++
60	80	1:1	++
40	80	1:2	+++
50	80	1:2	++++
60	80	1:2	++++++
40	100	1:1	++
50	100	1:1	++
60	100	1:1	+
40	100	1:2	++++
50	100	1:2	++++
60	100	1:2	++
40	120	1:1	+++
50	120	1:1	++++
60	120	1:1	++
40	120	1:2	++++
50	120	1:2	+++
60	120	1:2	+++

* Zero sign indicates no odors, decrease in the (+) sign indicates – moderate odors, increase in the (+) sign indicates – stinky odors.

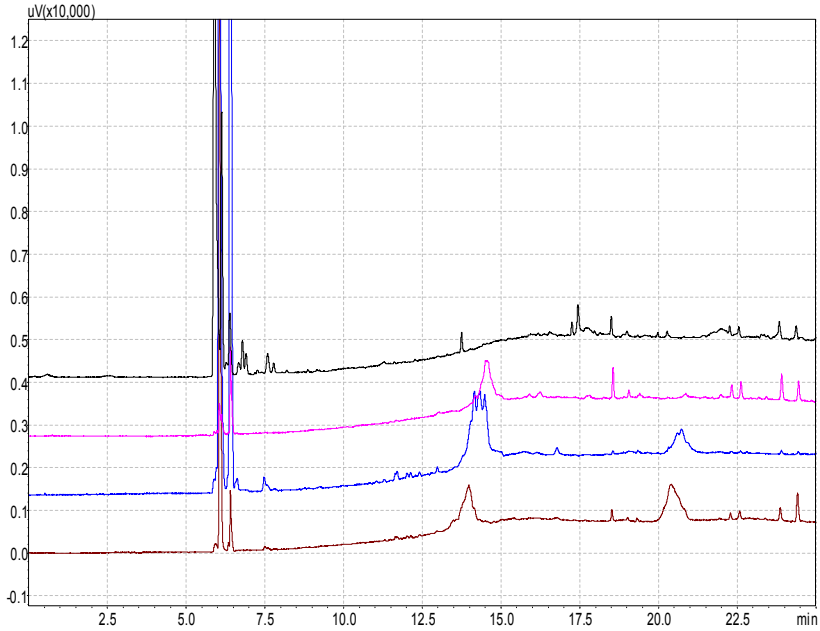
나. 추출 전 · 후 vent gas 분석 결과

Lipase 가 없는 경우의 각 실험 조건에 따라 vent gas 의 GC 분석 결과를 비교해 볼 수 있다. 멸치분말의 경우 5.9 분 peak 가 크지만, 80 bar, 1:1 의 조건과 100 bar, 1:2 의 조건의 경우 5.9 분 peak 는 적음을 알 수 있다. 대신 6.4 분, 14 분, 20.5 분, 23 분, 24 분의 peak 가 멸치분말의 경우 적은 영역을 나타내는데, 추출 후의 시료를 분석한 결과 추출 전보다 peak 의 영역이 증가하였음을 알 수 있다. 80 bar, 1:1 의 경우 온도가 증가함에 따라 6.2 분 peak 가 대량 또는 소량 증가하는 것을 알 수 있으며, 100 bar, 1:2 의 조건에서 6.2 분 peak 의 경우 온도가 올라간 80 ℃에서 peak area 가 증가함을 알 수 있다 (Fig. 7).

Lipase 가 있는 경우의 vent gas 의 GC 분석 결과를 비교해 볼 수 있다. Lipase 가 없는 경우와 다르게 많은 peak 들을 볼 수 있다는 것은 분석 그래프를 통해서 알 수 있다. 80 bar, 1:2 의 조건에서 5.9 분 peak 가 온도가 변함에 따라 많은 양이 감소하였음을 알 수 있었다. 또한 바로 뒤의 6.2 분 peak 역시 멸치 분말에 비해 많은 양이 감소하였음을 알 수 있었다. 그리고 그 외의 14 분, 18,3 분, 22.3 분, 22.6 분, 23 분, 24 분 모두 추출 과정을 거치기 전보다 증가하였음을 알 수 있다. 100 bar, 1:2 의 조건에서는 5.9 분, 6.2 분 peak 가 추출 과정을 거치기 전보다 증가하였음을 알 수 있다. 또한 18.3 분, 22.3 분, 22.6 분, 23 분, 24 분에서의 peak 의 경우 추출 과정보다 증가하였음을 알 수 있다 (Fig. 8).

Lipase 유무에 상관없이 추출 전보다 많은 양이 더 추출 되었다는 것을 알 수 있다. 이는 뒤의 aldehyde 함유량을 비교하였을 때 많은 양이 추출 전보다 감소된 것과 연관성이 있음을 보여주고 있다.

a)



b)

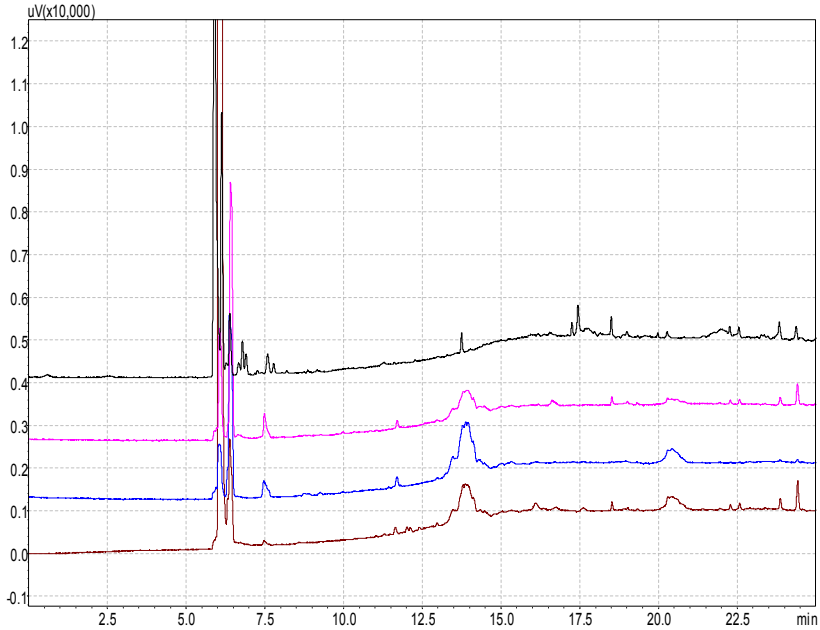
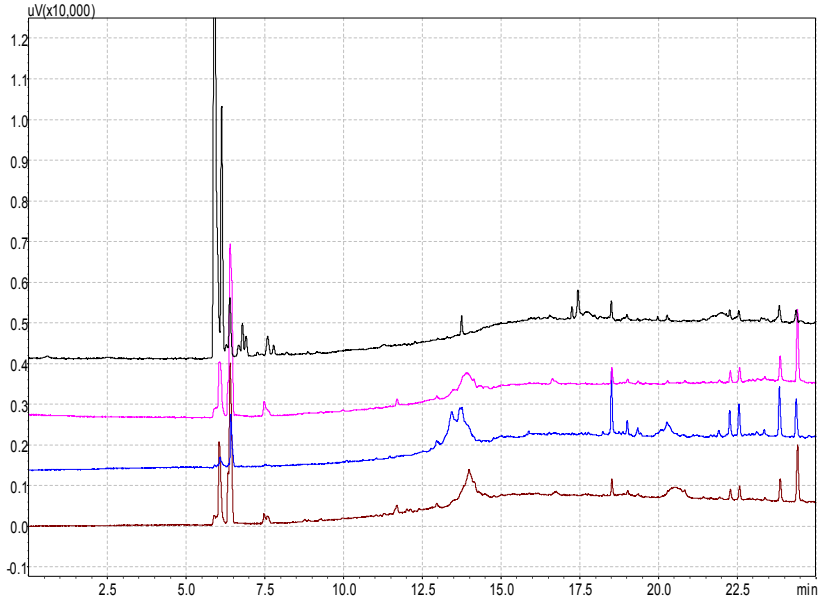


Figure 7. Change of vent gas composition with reaction temperature (without lipase). a: 80 bar, 1:1, b: 100 bar, 1:2 . −: anchovy powder(control), −: 40 ℃, −:

60 ℃, −: 80 ℃.

a)



b)

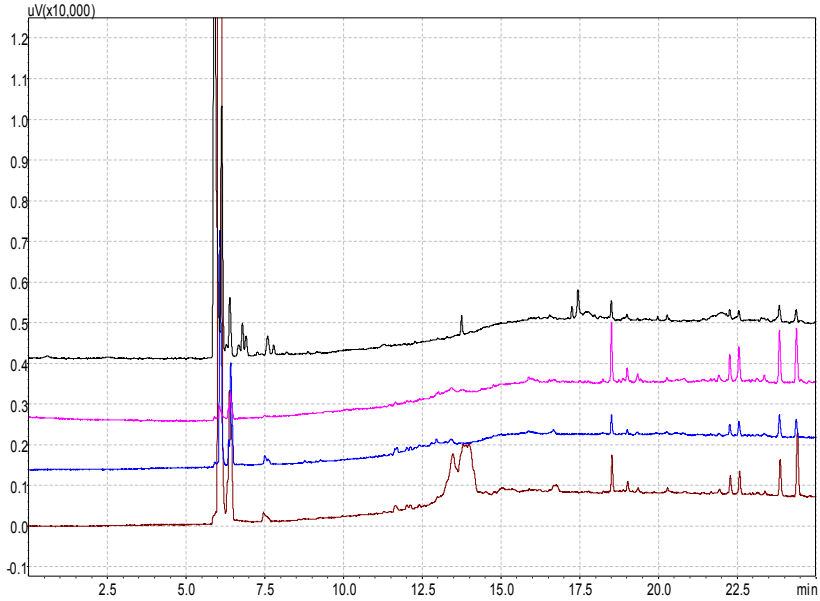


Figure 8. Change of vent gas composition with reaction temperature (with lipase). a: 80 bar, 1:2, b: 100 bar, 1:2 . −: anchovy powder(control), −: 40 ℃, −: 50 ℃, −: 60 ℃.

다. 추출 전 · 후 aldehyde 계 성분 분석 결과

추출 전의 aldehyde 양을 100%일 때, 온도가 높아지면서 aldehyde 양이 감소한다는 것을 알 수 있다 (Table 5 and Fig. 9).

먼저 lipase 를 넣지 않은 조건에서 1 bar 에서 온도가 올라감에 따라 aldehyde 가 많은 양은 아니지만 전체의 5 ~ 15%가 감소하였다. 이때 온도가 올라감에 따라 40 ℃일 때에 비해 약 8%정도 더 감소하였다는 것을 알 수 있고, 1 bar 에서 고온 일수록 aldehyde 의 양이 많이 감소한다는 것을 알 수 있다. 압력을 초임계 상태로 올려보았을 때, 1 bar 에 비해 훨씬 많은 양의 aldehyde 가 감소하였다는 것을 알 수 있다. 가장 많이 감소한 조건은 120 bar, 1:1 / 1:2 로 추출 전에 비해 1 ~ 2% 남아있음을 알 수 있다. 적은 양이 감소한 조건은 100 bar, 1:2, 40 ℃에서 약 93%가 남아있다. 온도가 40 ℃일 때, 많은 양이 남아 있고, 80 ℃일 때, 적은 양이 남아 있음을 알 수 있다.

다음 lipase 를 넣어주고 1 bar 에서 온도가 올라감에 따라 aldehyde 가 약간 감소한다. 이때, 전체의 85 ~ 95%정도로 감소하는 경향을 보였다. 하지만, 온도가 올라감에 따라 aldehyde 의 양이 감소하는 것이 아니라 50 ℃에서는 다른 온도에 비해 aldehyde 의 양이 전체의 비해 더 많은 양이 남아 있음을 알 수 있다. 60 ℃에서는 적은 양의 aldehyde 를 가지고 있다는 것을 알 수 있다. 압력을 초임계 상태로 올렸을 때, 120 bar 를 제외한 다른 압력에서 50 ℃는 다른 온도에 비해 많은 양의 aldehyde 를 가지고 있다. Lipase 의 최적 온도는 50 ℃이며, lipase 는 triglyceride 와 물과 함께 반응하면 glycerol 과 3 분자의 fatty acid 을 만들어 낸다 [4]. 이때 fatty acid 들이 효소적 반응에 의해 aldehyde 로 합성된다 [19, 20, 21]. 그리하여 50 ℃에서 aldehyde 의 양이 전체에 비해 많은 양이 남아 있음을 가정해 볼 수 있다. 40 ℃에서는 120 bar, 1:1 의 조건에서는 전체의 3%가 남아 있음을 알 수 있고, 80 bar, 1:2 의 조건에서는 전체의 5%가 남아 있음을 알 수 있다. 60 ℃에서는 120 bar, 1:2 의 조건에서 전체의 2% 남아 있음을 알 수 있다. Lipase 가 있는 조건에서 가장 좋은 조건은 120 bar, 1:1, 50 ℃ 로 1.6%로 가장 많은 양의 aldehyde 가 없어졌음을 알 수 있다.

온도별에 따른 aldehyde 의 양의 변화를 비교해 볼 때 lipase 가 없는 경우는 80 ℃에서, lipase 가 있는 경우는 50 ℃에서 가장 많은 양의 aldehyde 가 감소하였다는 것을 알 수 있다.

Table 6. Comparison of aldehyde area and percent with different reaction temperature

a)

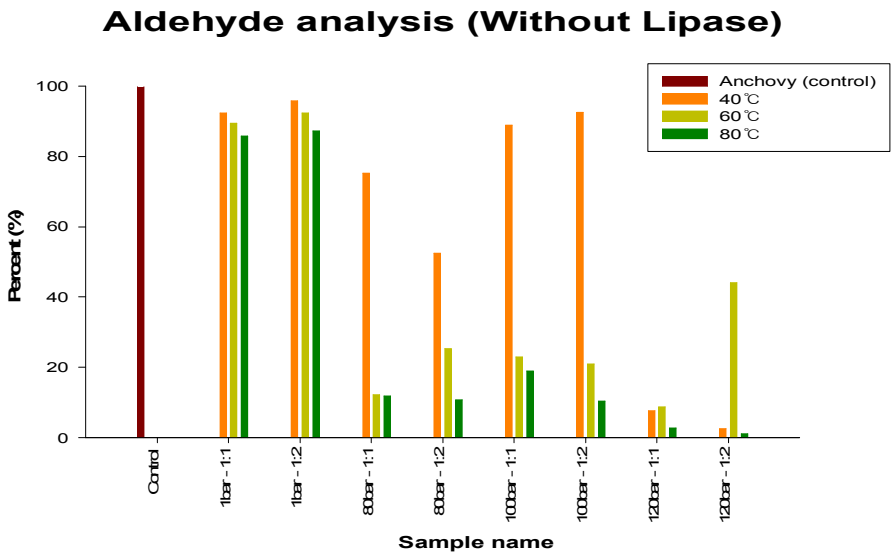
	40 ℃		60 ℃		80 ℃	
	Aldehyde area	%	Aldehyde area	%	Aldehyde area	%
Control	7015311	100	7015311	100	7015311	100
1 bar – 1:1	6475132	92.3	6271688	89.4	6012122	85.7
1 bar – 1:2	6720668	95.8	6475132	92.3	6117351	87.2
80 bar – 1:1	5280511	75.3	858725	12.2	827662	11.8
80 bar – 1:2	3678393	52.4	1774747	25.3	761487	10.9
100 bar – 1:1	6229752	88.8	1609667	23.0	1331961	19.0
100 bar – 1:2	13023919	92.6	1470473	21.0	727764	10.4
120 bar – 1:1	545694	7.78	623113	8.9	194226	2.8
120 bar – 1:2	187785	2.68	3094518	44.1	74789	1.07

b)

	40 ℃		50 ℃		60 ℃	
	Aldehyde area	%	Aldehyde area	%	Aldehyde area	%
Control	7015311	100	7015311	100	7015311	100
1 bar – 1:1	6348856	90.5	6362887	90.7	5998091	85.5
1 bar – 1:2	6510209	92.8	6692607	95.4	6257657	89.2
80 bar – 1:1	7733980	78.2	8920258	91.8	1528911	21.8
80 bar – 1:2	316351	4.5	3665509	52.3	932556	13.3
100 bar – 1:1	8427250	84.5	9016517	92.5	8222306	81.9
100 bar – 1:2	1456813	20.8	3484393	49.7	1116815	15.9
120 bar – 1:1	201861	2.9	113847	1.6	922759	13.2
120 bar – 1:2	2878835	41.0	246698	3.5	157042	2.2

a) without lipase, b) with lipase

a)



b)

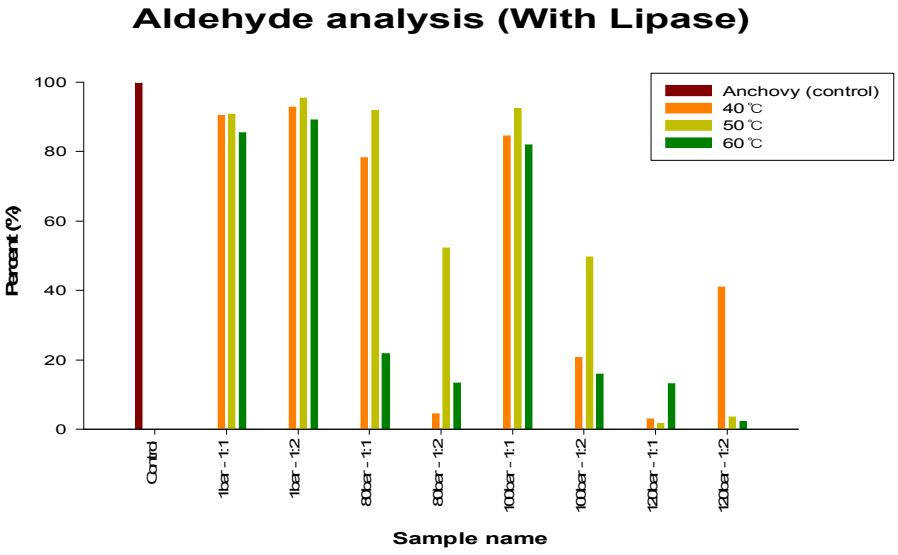


Figure 9. Changes of aldehyde with reaction temperature. a) without lipase, b) with lipase .

3. 초임계 반응 압력에 따른 결과

가. 추출 전 · 후 후각 결과

후각 결과의 경우 관능평가 설문조사를 통해 “ ‘+’ 가 적을 수록 비린취가 적다. ‘+’ 가 많은 수록 비린취가 심하다.” 로 표시하였다.

Lipase 가 없는 경우 압력이 높아질수록 비린취가 상대적으로 낮아졌다는 결과를 볼 수 있었다. 60 ℃ 와 80 ℃의 조건에서는 비린취가 상대적으로 비슷하거나 더 높아졌다는 것을 알 수 있고, 이때는 압력보다는 온도에 영향이 커서 구분이 되지 않는다고 생각된다. 40 ℃의 조건에서는 추출 전보다 비린취가 낮아졌음을 알 수 있다 (Table 6).

Lipase 가 있는 경우 40 ℃의 조건에서 압력이 증가할 수록 비린취가 감소하였다. 1:1 의 조건에서는 80 bar 와 100 bar 에서 비린취가 상대적으로 유사하고, 120 bar 에서 비린취가 상대적으로 높다는 것을 알 수 있다. 1:2 의 조건에서는 80 bar 가 100 bar 보다 비린취가 상대적으로 좋아졌고, 100 bar 와 120 bar 는 비린취가 상대적으로 유사함을 알 수 있다. 50 ℃와 60 ℃의 구간에서 80 bar 와 100 bar 에서 비린취가 상대적으로 낮아졌고, 120 bar 에서 비린취가 상대적으로 높음을 알 수 있다 (Table 7).

Table 7. Changes of odor with different reaction pressure (without lipase)

Anchovy powder (control)		Before	0
1:1		Before	++++
1:2		Before	++++++
T (℃)	P (bar)	Rate ratio	Result
40	80	1:1	++++++
40	100	1:1	++++
40	120	1:1	+++
40	80	1:2	++++++
40	100	1:2	++++
40	120	1:2	+++
60	80	1:1	++
60	100	1:1	++
60	120	1:1	+++
60	80	1:2	++++
60	100	1:2	++++++
60	120	1:2	++++
80	80	1:1	+
80	100	1:1	+
80	120	1:1	+
80	80	1:2	+
80	100	1:2	+
80	120	1:2	+

* Zero sign indicates no odors, decrease in the (+) sign indicates – moderate odors, increase in the (+) sign indicates – stinky odors.

Table 8. Changes of odor with different reaction pressure (with lipase)

Anchovy powder (control)		Before	0
1:1		Before	++++
1:2		Before	++++++
T (℃)	P (bar)	Rate ratio	Result
40	80	1:1	++
40	100	1:1	++
40	120	1:1	+++
40	80	1:2	+++
40	100	1:2	++++
40	120	1:2	++++
50	80	1:1	++++
50	100	1:1	++
50	120	1:1	++++
50	80	1:2	++++
50	100	1:2	++++
50	120	1:2	+++
60	80	1:1	++
60	100	1:1	+
60	120	1:1	++
60	80	1:2	++++++
60	100	1:2	++
60	120	1:2	+++

* Zero sign indicates no odors, decrease in the (+) sign indicates – moderate odors, increase in the (+) sign indicates – stinky odors.

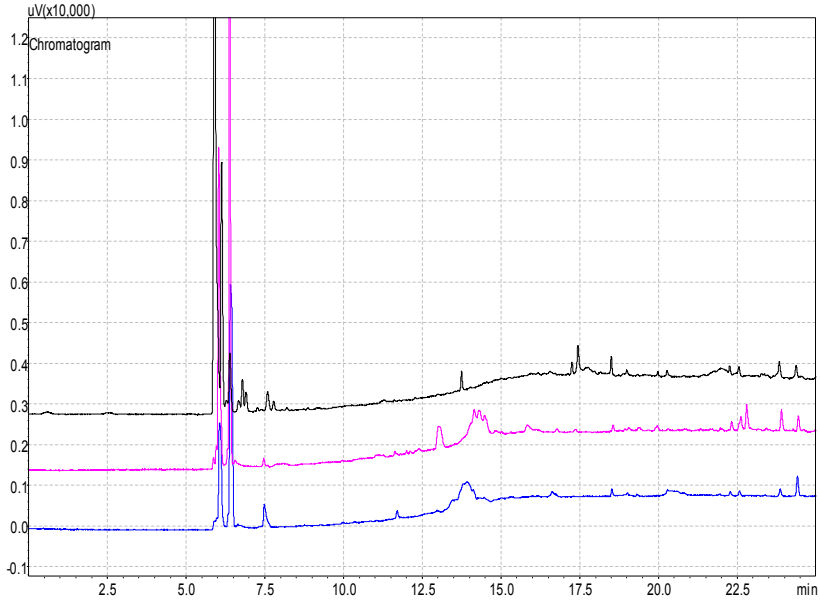
나. 추출 전 · 후 vent gas 분석 결과

Lipase 가 없는 경우의 각 실험 조건에 따라 vent gas 의 GC 분석 결과를 비교해 보았다. 먼저 40 ℃, 1:2 의 조건에서 비교해보았다. 5.9 분 peak 는 압력이 올라갈수록 감소한 경향을 보이고, 6.2 분 peak 에서는 80 bar 가 100 bar 에 비해 많은 양이 증가하였지만, 전체적으로 많은 양이 증가되었다는 것을 알 수 있다. 또한 13 분과 14 분의 peak 는 추출 전보다 많은 양이 생성되었고, 23 분과 24 분의 peak 는 추출 전보다 많은 양은 아니지만, 조금 증가한 결과를 보이고 있다. 80 ℃, 1:2 의 조건에서 비교해보았다. 5.9 분과 6.2 분 peak 는 전체적으로 추출 전보다 조금 증가하였다는 것을 알 수 있다. 또한, 23 분과 24 분의 peak 는 증가하는 것으로 보이고, 또한 압력이 올라갈수록 증가하는 경향성을 나타낸다 (Fig. 10).

Lipase 가 있는 경우의 vent gas 의 GC 분석결과를 비교해 보았다. 60 ℃, 1:1 의 조건에서 비교해보았다. 5,9 분과 6.2 분 peak 는 80 bar 와 100 bar 모두 추출 전보다 감소하였음을 알 수 있었다. 또한 13 분의 peak 는 80 bar 에서 많은 양이 증가하였음을 보이고, 22.3 분, 22.6 분, 23 분, 24 분에서의 peak 는 추출 전보다 추출 후 많은 양이 증가하였음을 알 수 있다. 이때는 압력이 올라갈수록 양이 증가하였다는 것을 보여주고 있으며, 60 ℃, 1:2 의 조건에서 비교해보았을 때 역시 6.2 분 peak 역시 감소한 것을 보이며, 13 분과 22.3 분, 22.6 분, 23 분, 24 분에서의 peak 가 증가한 결과를 보여주고 있다 (Fig. 11).

Lipase 유무에 상관 없이 추출 전보다 많은 양이 더 추출 되었고, 이는 aldehyde 함유량을 비교하였을 때 많은 양이 추출 전보다 감소된 것과 연관성이 있음을 보여준다.

a)



b)

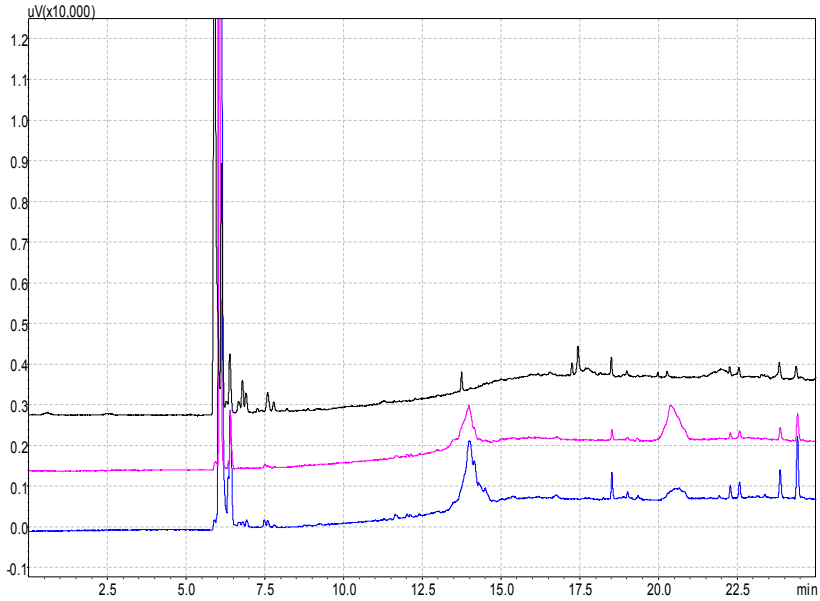
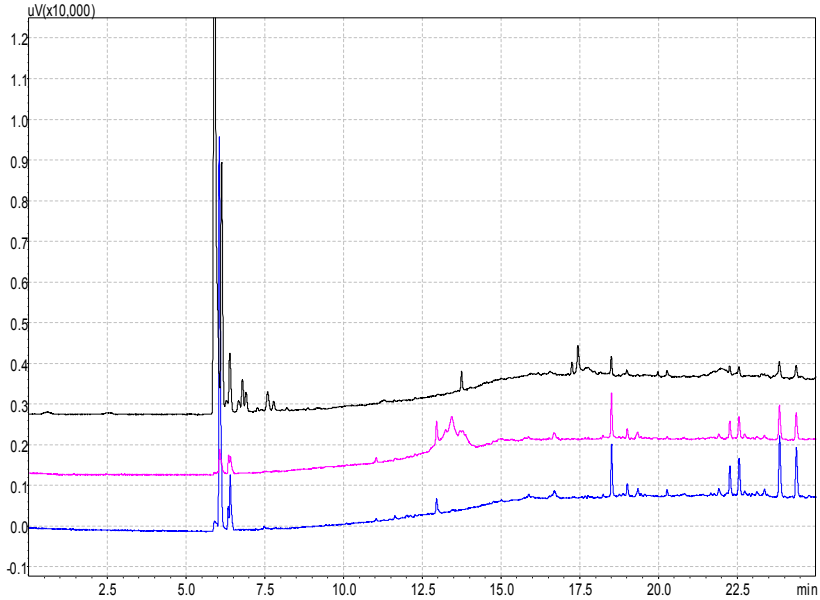


Figure 10. Change of vent gas composition with reaction pressure (without lipase). a: 40 ℃, 1:2, b: 80 ℃, 1:2. −: anchovy powder (control), −: 80 bar, −: 100 bar.

a)



b)

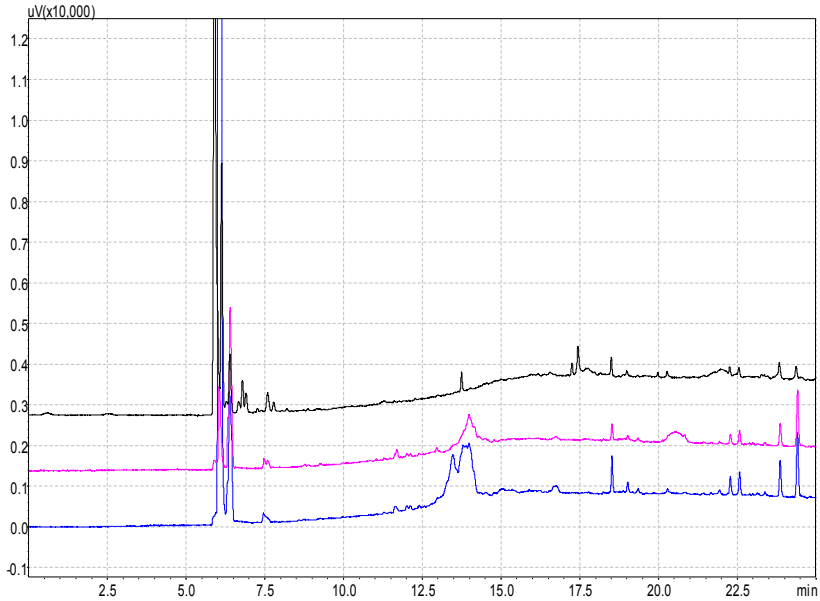


Figure 11. Change of vent gas composition with reaction pressure (with lipase). a: 60 ℃, 1:1, b: 60 ℃, 1:2. −: anchovy powder (control), −: 80 bar, −: 100 bar.

다. 추출 전 · 후 aldehyde 계 성분 분석 결과

전체적으로 비교해볼 때, 압력이 높아질수록 aldehyde 양이 감소한다는 것을 알 수 있고, 멸치분말 추출 전의 aldehyde 양을 100%로 놓았을 때 aldehyde 양이 줄어든 것을 볼 수 있다 (Table 8 and Fig. 12).

Lipase 를 넣지 않은 조건에서 1 bar 의 경우 85 ~ 95%의 aldehyde 가 남아 있음을 알 수 있다. 80 ℃ 1:1 의 조건에서 전체의 85%로 1 bar 에서 가장 적은 양이 존재하였다. 이때 압력을 초임계 상태로 압력으로 올려주었을 경우, 1 bar 의 조건에서보다 많은 양이 감소하였음을 알 수 있다. 60 ℃, 1:2 의 조건에서는 120 bar 에서 많은 양의 aldehyde 가 남아 있다는 것을 알 수 있다. 120 bar 에서 전체의 44%가 남아 있으며 그 외 다른 조건들에서 120 bar 의 경우 9% 미만의 aldehyde 를 가지고 있음을 알 수 있다. 80 bar 의 조건에서 많은 양이 남은 경우 75%가 남아 있으며, 적은 양은 10%정도 남아 있음을 알 수 있다. 100 bar 의 조건에서는 많은 양은 92%로 남아 있으며, 적은 양은 10%정도 남아 있음을 알 수 있다. 압력이 100 bar 일 때 많은 양의 aldehyde 가 남아있음을 알 수 있고, 120 bar 일 때 적은 양의 aldehyde 가 남아 있음을 알 수 있다.

Lipase 를 넣은 조건에서 1 bar 의 경우 85 ~ 92%의 aldehyde 가 남아 있음을 알 수 있고, 추출 전과 비교하였을 때 모두 감소한 것으로 볼 수 있다. 이때 압력을 초임계 상태로 올렸을 때 1 bar 의 조건보다 훨씬 많은 양이 감소하였음을 알 수 있다. 먼저 80 bar 에서는 40 ℃, 1:2 의 조건에서 전체의 4.5%가 남아 있음을 알 수 있다. 하지만 많은 양은 50 ℃, 1:1 의 조건에서 92%가 남아 있음을 알 수 있다. 100 bar 에서는 60 ℃ 1:2 의 조건에서 16%가 남아 있음을 알 수 있고, 50 ℃, 1:1 의 조건에서 전체의 92.5%가 남아 있음을 알 수 있다. 120 bar 에서는 많은 양은 40 ℃, 1:2 의 조건에서 전체의 41%가 남아 있음을 알 수 있고, 60 ℃, 1:1 의 조건을 제외하고 다른 조건에서 전체의 3%가 남아 있음을 알 수 있다.

압력별로 aldehyde 의 양의 변화를 비교해볼 때, lipase 가 없는 경우와 lipase 가 있는 경우 모두 120 bar 에서 많은 양의 aldehyde 가 감소하였다는 것을 알 수 있다.

Table 9. Comparison of aldehyde area and percent with different reaction pressure

a)

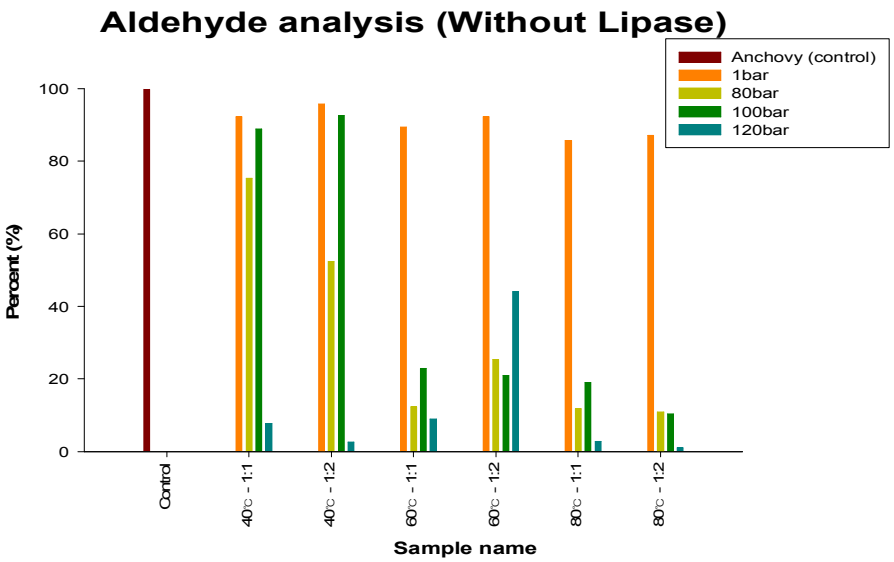
	1 bar		80 bar		100 bar		120 bar	
	Aldehyde area	%	Aldehyde area	%	Aldehyde area	%	Aldehyde area	%
Control	7015311	100	7015311	100	7015311	100	7015311	100
40 ℃ – 1:1	6475132	92.3	5280425	75.3	6229596	88.8	545791.2	7.8
40 ℃ – 1:2	6720668	95.8	3678128	52.4	6496178	92.6	188010.3	2.7
60 ℃ – 1:1	6271688	89.4	858674.1	12.2	1610014	23.0	622959.6	8.9
60 ℃ – 1:2	6475132	92.3	1774874	25.3	1470409	21.0	3094454	44.1
80 ℃ – 1:1	6012122	85.7	827806.7	11.8	1332208	19.0	194324.1	2.8
80 ℃ – 1:2	6117351	87.2	761161.2	10.9	727487.8	10.4	75063.83	1.1

b)

	1 bar		80 bar		100 bar		120 bar	
	Aldehyde area	%	Aldehyde area	%	Aldehyde area	%	Aldehyde area	%
Control	7015311	100	7015311	100	7015311	100	7015311	100
40 ℃ – 1:1	6348856	90.5	5485973	78.2	5927938	84.5	202041	2.9
40 ℃ – 1:2	6510209	92.8	316390.5	4.51	1457080	20.8	2879084	41
50 ℃ – 1:1	6362887	90.7	6440055	91.8	6489163	92.5	113648	1.6
50 ℃ – 1:2	6692607	95.4	3665500	52.3	3484505	49.7	246938.9	3.5
60 ℃ – 1:1	5998091	85.5	1528636	21.8	5745540	81.9	922513.4	13.2
60 ℃ – 1:2	6257657	89.2	932334.8	13.3	1116838	16.0	157143	2.2

a) without lipase, b) with lipase

a)



b)

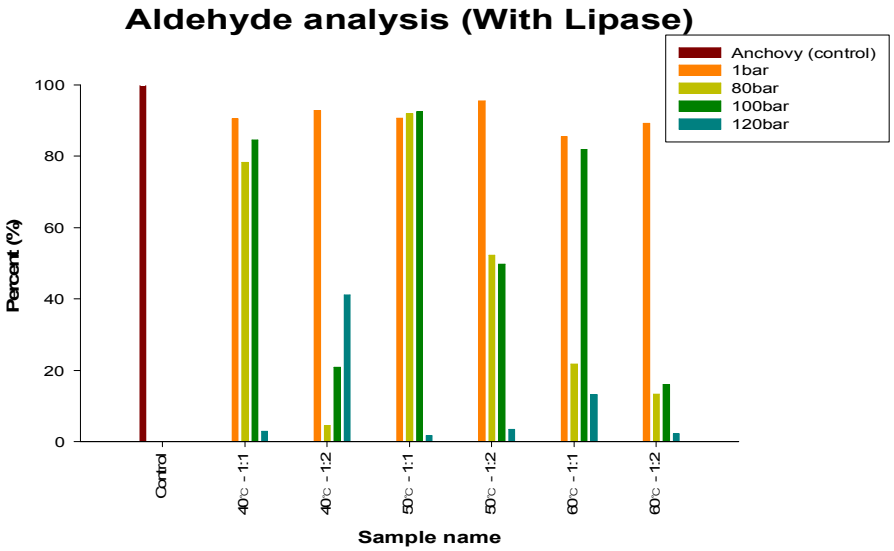


Figure 12. Changes of aldehyde with reaction pressure. a) without lipase, b) with lipase.

4. 초임계 반응 보조용매 비율에 따른 결과

가. 추출 전 · 후 후각 결과

후각 결과의 경우 관능평가 설문조사를 통해 “ ‘+’ 가 적을 수록 비린취가 적다. ‘+’ 가 많은 수록 비린취가 심하다.” 로 표시하였다.

Lipase 가 없는 경우에서 추출 전에 비해 비린취가 상대적으로 낮아졌다는 것을 알 수 있다. 40 ℃, 80 bar 의 경우 1:1 과 1:2 의 조건에 상관없이 추출 전보다 비린취가 상대적으로 높아졌다는 것을 보여준다. 40 ℃, 100 bar 와 120 bar 에서 1:1 과 1:2 에서 비린취가 상대적으로 낮아졌다. 60 ℃에서는 1:1 보다 1:2 에서 비린취가 상대적으로 높아졌다는 것을 알 수 있다. 이는 온도가 올라가면서 에탄올이 끓기 때문에 더 많은 냄새가 나는 것으로 추측해볼 수 있다. 또한 80 ℃에서는 고온의 영향으로 에탄올이 증발되어 더 냄새가 나지 않은 것으로 생각해 볼 수 있다 (Table 9).

Lipase 가 있는 경우 1:1 보다 1:2 에서 비린취가 상대적으로 높아졌다는 것을 알 수 있다. 이는 에탄올의 비율이 많아지면서 좋지 않은 냄새를 준다는 것을 알 수 있다. 60 ℃, 80 bar, 1:2 의 조건에서 추출 전보다 비린취가 상대적으로 더 높아졌다는 것을 알 수 있고, 그 외의 조건에서는 추출 전보다 비린취가 상대적으로 낮아졌다는 것을 알 수 있다 (Table 10).

Table 10. Changes of odor with different solvent ratio (without lipase)

Anchovy powder (control)		Before	0
1:1		Before	++++
1:2		Before	++++++
T (℃)	P (bar)	Rate ratio	Result
40	80	1:1	+++++++
40	80	1:2	++++++
40	100	1:1	++++
40	100	1:2	++++
40	120	1:1	+++
40	120	1:2	+++
60	80	1:1	++
60	80	1:2	++++
60	100	1:1	++
60	100	1:2	++++++
60	120	1:1	+++
60	120	1:2	++++
80	80	1:1	+
80	80	1:2	+
80	100	1:1	+
80	100	1:2	+
80	120	1:1	+
80	120	1:2	+

* Zero sign indicates no odors, decrease in the (+) sign indicates – moderate odors, increase in the (+) sign indicates – stinky odors.

Table 11. Changes of odor with different solvent ratio (with lipase)

Anchovy powder (control)		Before	0
1:1		Before	++++
1:2		Before	++++++
T (℃)	P (bar)	Rate ratio	Result
40	80	1:1	++
40	80	1:2	+++
40	100	1:1	++
40	100	1:2	++++
40	120	1:1	+++
40	120	1:2	++++
50	80	1:1	++++
50	80	1:2	++++
50	100	1:1	++
50	100	1:2	++++
50	120	1:1	++++
50	120	1:2	+++
60	80	1:1	++
60	80	1:2	++++++
60	100	1:1	+
60	100	1:2	++
60	120	1:1	++
60	120	1:2	+++

* Zero sign indicates no odors, decrease in the (+) sign indicates – moderate odors, increase in the (+) sign indicates – stinky odors.

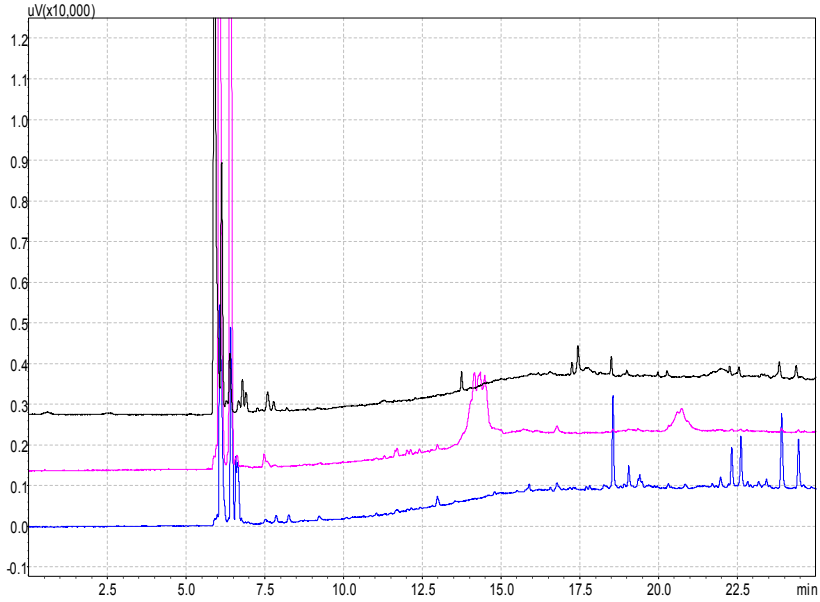
나. 추출 전 · 후 Vent gas 분석 결과

Lipase 가 없는 경우 60 ℃, 80 bar 의 조건에서 비교해 보았을 때 5.9 분과 6.2 분 peak 가 1:1 의 조건에선 추출 전보다 증가하였고, 5.9 분과 6.2 분 peak 가 1:2 의 조건에서는 추출 전보다 감소한 것을 알 수 있다. 14 분 peak 는 1:1 의 조건에서는 많은 양이 생성 되지만, 1:2 의 조건에서 추출 전보다 감소 하였음을 알 수 있다. 또한 18.3 분 peak 의 경우 1:1 의 조건은 감소되지만, 1:2 의 조건에서는 추출 전보다 많이 증가하였다는 것을 알 수 있다. 그리고 22.3 분, 22.6 분, 23 분, 24 분 peak 는 1:1 은 감소하였지만, 1:2 의 조건에서는 추출 전보다 훨씬 많은 양이 증가하였음을 알 수 있다. 80 ℃, 80 bar 의 조건에서는 18.3 분과 23 분, 24 분 peak 가 추출 전보다 증가하였음을 알 수 있다 (Fig. 13).

Lipase 가 있는 경우는 40 ℃, 100 bar 의 조건에서 18.3 분의 peak 는 1:1 의 조건에서는 추출 전보다 감소하였지만, 1:2 의 조건에서는 추출 전보다 증가하였음을 알 수 있고, 22.3 분, 22.6 분, 23 분, 24 분 peak 는 1:1 의 조건에서 감소한 부분과 증가한 부분이 있으며, 1:2 의 조건에서는 전체적으로 증가하는 경향성을 보인다. 60 ℃, 100 bar 의 조건에서 14 분에서의 1:2 의 조건에서는 많은 양이 증가하였음을 알 수 있고, 18 분, 22.3 분, 22.6 분, 23 분, 24 분에서는 1:1 과 1:2 의 조건 모두 증가하는 것을 알 수 있다 (Fig. 14).

Lipase 유무에 상관 없이 추출 전보다 더 많은 양이 추출 되었고, 이는 aldehyde 함유량을 비교하였을 때 많은 양이 추출 전보다 감소된 것과 연관성이 있음을 보여준다.

a)



b)

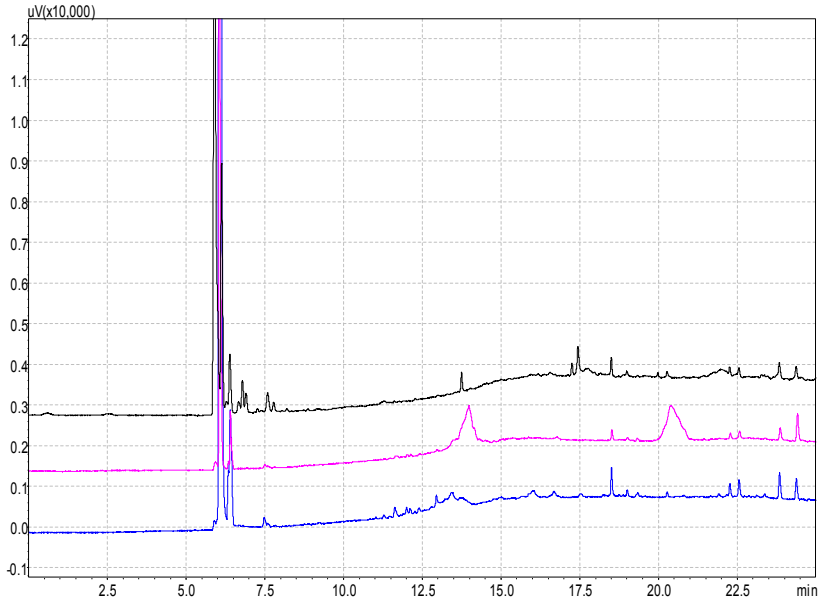
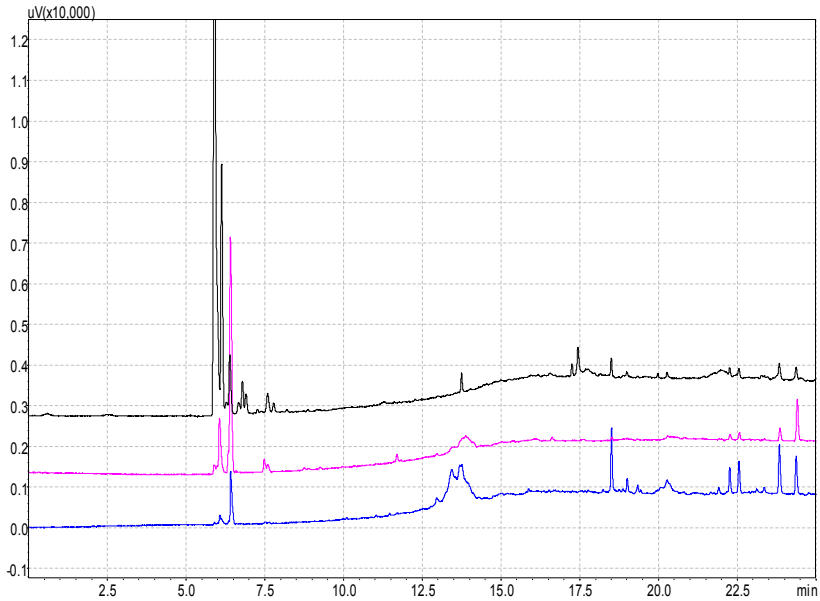


Figure 13. Change of vent gas composition with solvent ratio (without lipase). a) 60 ℃, 80 bar, b) 80 ℃, 80 bar. −: anchovy powder (control), −: 1:1, −: 1:2.

a)



b)

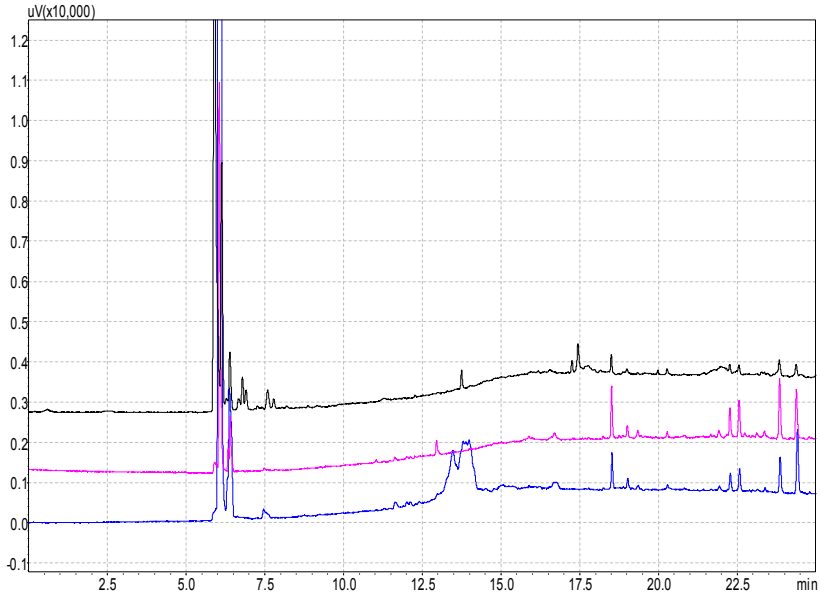


Figure 14. Change of vent gas composition with solvent ratio (with lipase). a) 40 ℃, 100 bar, b) 60 ℃, 100 bar. −: anchovy powder (control), −: 1:1, −: 1:2.

다. 추출 전 · 후 aldehyde 계 성분 분석 결과

추출 실험을 통하여 압력이 높아질수록 aldehyde 양이 감소한다는 것을 알 수 있고, 멸치분말 추출 전의 aldehyde 의 양을 100%로 놓았을 때 aldehyde 양이 줄어든 것을 볼 수 있다 (Table 11 and Fig. 15).

1 bar 의 조건에서 볼 때 1:1 과 1:2 의 조건을 비교해볼 때 1:1 에 비해 1:2 의 조건에서 더 많은 양의 aldehyde 가 2 ~ 3% 이상 남아 있음을 알 수 있다. 초임계 상태에서 비교해 볼 때, 온도에 상관없이 1:1 의 조건이 1:2 의 조건에 비해 더 많은 양의 aldehyde 가 남아 있음을 알 수 있고, 60 ℃의 조건에서 1:1 의 비율에서 1:2 의 비율보다 약 15 ~ 30%정도 더 적은 aldehyde 가 남아 있음을 역시 확인 할 수 있다. 1:1 의 조건에서 많은 양의 aldehyde 가 남아 있는 것은 전체의 90%임을 알 수 있고, 적게는 2.8%가 남아 있음을 알 수 있다. 1:2 의 조건에서 볼 때 많은 양은 전체의 52%, 92%가 남아 있으며, 적은 양은 1.1%가 남아 있음을 알 수 있다. 비율 1:1 의 조건에서 많은 양이 남아 있음을 알 수 있고, 1:2 의 조건에서 적은 양이 남아 있음을 알 수 있다.

다음 lipase 를 넣은 조건에서 볼 때, 1:1 의 비율이 1:2 의 비율에 비해 2 ~ 5%정도로 적은 양의 aldehyde 를 가지고 있는 것을 알 수 있다. 하지만 초임계 상태의 경우 1:1 의 비율은 1:2 의 비율에 비해 훨씬 많은 양의 aldehyde 를 가지고 있음을 알 수 있다. 1:1 의 조건에서 보았을 때 전체에 비해 많게는 92%정도의 aldehyde 를 가지고 있고, 적게는 1.6%정도의 aldehyde 를 가지고 있음을 알 수 있다. 1:2 의 조건에서 보았을 때 전체에 비해 많게는 52%를 가지고 있으며, 적게는 2.2%정도를 가지고 있음을 알 수 있다. 비율 1:1 의 조건에서 더 많은 양의 aldehyde 가 남아 있음을 알 수 있고, 1:2 의 조건에서 더 적은 양의 aldehyde 가 남아 있음을 알 수 있다.

비율별에 따른 aldehyde 의 양의 변화를 비교해볼 때 lipase 가 없는 경우와 lipase 가 있는 경우 모두 1:2 의 조건에서 가장 많은 양의 aldehyde 가 감소하였다는 것을 알 수 있다.

Table 12. Comparison of aldehyde area and percent with different solvent ratio

a)

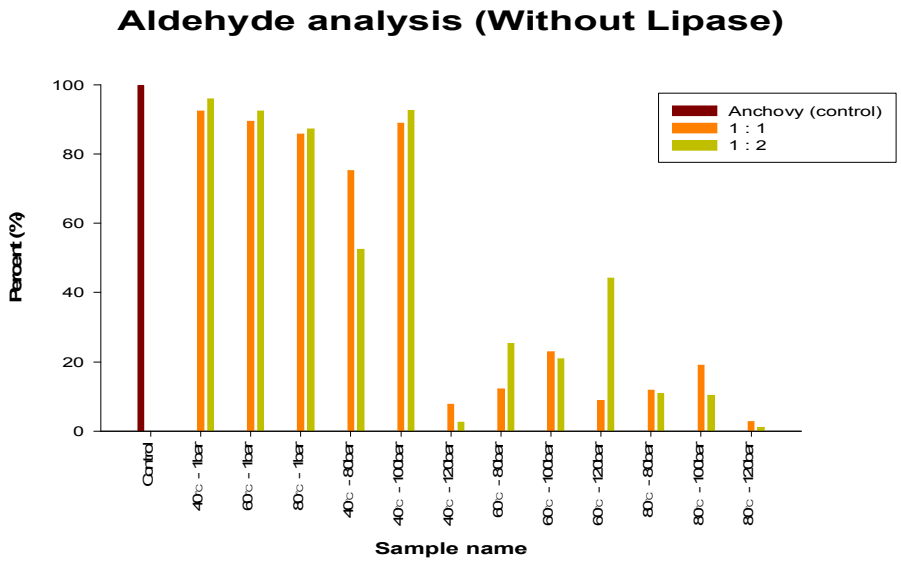
	1 : 1		1 : 2	
	Aldehyde area	%	Aldehyde area	%
Control	7015311	100	7015311	100
40 ℃ – 1 bar	6475132.1	92.3	6720668	95.8
60 ℃ – 1 bar	6271688	89.4	6475132	92.3
80 ℃ – 1 bar	6012121.5	85.7	6117351	87.2
40 ℃ – 80 bar	5280511	75.3	3678393	52.4
40 ℃ – 100 bar	6229752	88.8	13023919	92.6
40 ℃ – 120 bar	545694	7.8	187785	2.7
60 ℃ – 80 bar	858725	12.2	1774747	25.3
60 ℃ – 100 bar	1609667	22.9	1470473	20.9
60 ℃ – 120 bar	623113	8.9	3094518	44.1
80 ℃ – 80 bar	827662	11.8	761487	10.9
80 ℃ – 100 bar	1331961	19.0	727764	10.4
80 ℃ – 120 bar	194226	2.8	74789	1.1

b)

	1 : 1		1 : 2	
	Aldehyde area	%	Aldehyde area	%
Control	7015311	100	7015311	100
40 ℃ – 1 bar	6348856	90.5	6510209	92.8
50 ℃ – 1 bar	6362887	90.7	6692607	95.4
60 ℃ – 1 bar	5998091	85.5	6257657	89.2
40 ℃ – 80 bar	7733980	78.2	316351	4.5
40 ℃ – 100 bar	8427250	84.5	1456813	20.8
40 ℃ – 120 bar	201861	2.9	2878835	41.1
50 ℃ – 80 bar	8920258	91.8	3665509	52.3
50 ℃ – 100 bar	9016517	92.5	3484393	49.7
50 ℃ – 120 bar	113847	1.6	246698	3.5
60 ℃ – 80 bar	1528911	21.8	932556	13.3
60 ℃ – 100 bar	8222306	81.9	1116815	15.9
60 ℃ – 120 bar	922759	13.2	157042	2.2

a) without lipase, b) with lipase.

a)



b)

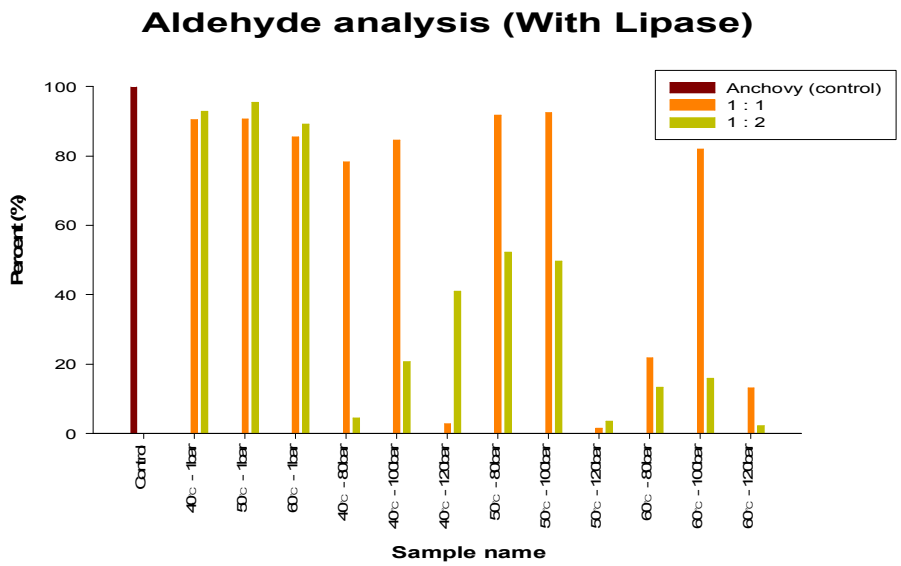


Figure 15. Change of aldehyde with solvent ratio. a) without lipase, b) with lipase.

5. 초임계 반응 추출물의 fatty acid 성분 분석 결과

Fatty acid 역시 냄새의 일종이다. 추출 전의 시료와 추출한 후의 시료의 fatty acid 을 비교 분석해 보았다 (Table 12 and Fig. 16).

가. Lipase 가 없는 경우

Myristic acid 와 palmitoleic acid 의 경우는 (60 ℃, 120 bar, 1:1)의 조건에서 124.8%와 119.0%로 증가하였다. 두 가지 fatty acid 모두 (40 ℃, 120 bar, 1:1), (40 ℃, 120 bar, 1:2), (80 ℃, 80 bar, 1:1), (80 ℃, 100 bar, 1:2)의 조건에서는 80 ~ 90% 감소 한 것을 알 수 있고, (80 ℃, 80 bar, 1:2) 의 조건에서는 63.6% 감소한 것을 알 수 있다. Palmitic acid, oleic acid, stearic acid 의 경우는 (40 ℃, 120 bar, 1:1), (40 ℃, 120 bar, 1:2), (60 ℃, 120 bar, 1:1), (80 ℃, 80 bar, 1:1), (80 ℃, 100 bar, 1:2)의 조건에서 103.1 ~ 121.1%까지 증가한 것을 알 수 있고, (80 ℃, 80 bar, 1:2)의 조건에서는 78.7 ~ 82.9%까지 감소하였음을 알 수 있다. 하지만 vaccenic acid 의 경우에는 모든 조건에서 103.9 ~ 156.1%까지 증가하였음을 보여준다. 반면, (80 ℃, 80 bar, 1:2)의 경우는 다른 조건들에 비해 추출전보다 감소하였다는 것을 알 수 있다.

온도가 높을수록, 압력이 높을수록, 1:1 의 비율보다는 1:2 의 비율에서 fatty acid 의 양이 증가하였음을 알 수 있다. 그리고 vaccenic acid 를 제외한 다른 fatty acid 에서는 추출 후의 fatty acid 양의 패턴이 유사함을 알 수 있다. Fatty acid 의 양으로는 (80 ℃, 80 bar, 1:2)의 조건에서 가장 많이 감소한 것을 알 수 있고, vaccenic acid 역시 가장 적은 폭으로 증가한 것을 알 수 있다. 하지만 (80 ℃, 100 bar, 1:2)의 조건에서 fatty acid 가 많이 증가한 것을 알 수 있고, (60 ℃, 120 bar, 1:1)의 조건에서는 myristic acid 와 palmitoleic acid 가 약 10%정도 감소한 것으로 보이며, 다른 fatty acid 의 경우 약 20 ~ 50%정도의 증가가 보여진다. Fatty acid 의 감소를 알아보기 위해 가장 좋은 조건은 (80 ℃, 80 bar, 1:2)의 조건임을 알 수 있다.

나. Lipase 가 있는 경우

Myristic acid 와 palmitoleic acid 의 경우는 추출 전보다 (40 ℃, 100 bar, 1:2), (40 ℃, 120 bar, 1:1), (50 ℃, 120 bar, 1:1), (50 ℃, 120 bar, 1:2), (60 ℃, 100 bar, 1:2), (60 ℃, 120 bar, 1:2)의 조건에서 추출 후의 결과가 모두 73 ~ 90%로 감소하였음을 알 수 있다. 하지만, palmitic acid, vaccenic acid, oleic acid, stearic acid 의 경우는 모두 증가하거나 거의 변화가 없는 것을 알 수 있다. Palmitic acid 는 (40 ℃, 100 bar, 1:2), (50 ℃, 120 bar, 1:1)의 조건에서 122.3%와 123.5%로 가장 많은 증가를 보였고, (50 ℃, 120 bar, 1:2)를 제외하고는 106 ~ 113%까지 증가하였음을 알 수 있다. 또 (50 ℃, 120 bar, 1:2)의 조건에서는 거의 변화가 없는 99%의 fatty acid 를 가지고 있다. Vaccenic acid 의 경우는 모든 조건에서 증가해서 129.8 ~ 156.7%까지 증가한 것을 알 수 있다. Oleic acid 의 경우는 (40 ℃, 100 bar, 1:2), (50 ℃, 120 bar, 1:1), (60 ℃, 100 bar, 1:2), (60 ℃, 120 bar, 1:2)의 조건에서 104.1 ~ 118.5%까지 증가하였음을 알 수 있다. 반면에 (40 ℃, 120 bar, 1:1), (50 ℃, 120 bar, 1:2)의 조건에서는 거의 변화가 없는 97.7 ~ 98.8%의 fatty acid 를 가지고 있다. Stearic acid 의 경우는 모든 조건에서 증가해서 103.7 ~ 132.5%까지 증가한 것을 알 수 있다.

온도가 높을수록, 압력이 높을수록, 1:2 의 비율보다는 1:1 의 비율에서 fatty acid 의 양이 많음을 알 수 있다. 또한 추출 후의 조건에서 fatty acid 양의 패턴이 유사함을 보여주고 있다. (50 ℃, 120 bar, 1:2)의 조건에서 vaccenic acid 와 stearic acid 는 5 ~ 30% 증가하였고, 다른 fatty acid 는 전체에 비해 77 ~ 97%정도 감소한 것을 알 수 있다. 또한 (40 ℃, 120 bar, 1:1)의 경우 역시 감소된 것을 알 수 있다. 이때 다른 조건들이 증가된 정도의 중간 값을 가진다. 그리고 (40 ℃, 100 bar, 1:2)와 (50 ℃, 120 bar, 1:1) 의 조건에서 가장 많이 증가한 것을 알 수 있다. Fatty acid 의 감소를 보기 위해 가장 좋은 조건은 (50 ℃, 120 bar, 1:2)의 조건임을 알 수 있다.

Table 13. Comparison of fatty acid composition

a)

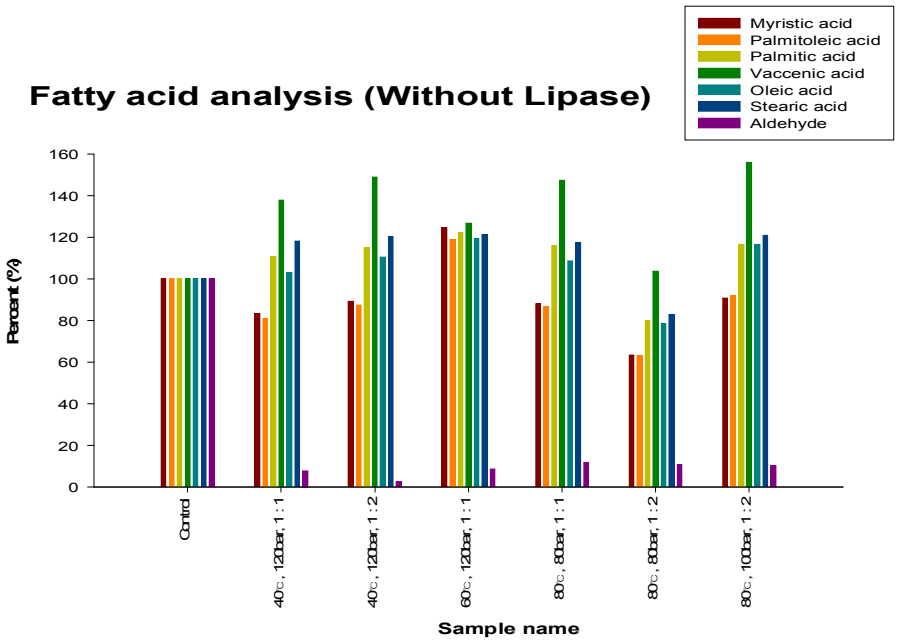
	Myristic acid	Palmitoleic acid	Palmitic acid	Vaccenic acid	Oleic acid	Stearic acid	Aldehyde
Control	100	100	100	100	100	100	100
40℃, 120bar, 1 : 1	83.4	80.8	110.7	137.9	103.1	118.1	7.8
40℃, 120bar, 1 : 2	89.3	87.3	115	149.1	110.4	120.3	2.7
60℃, 120bar, 1 : 1	124.8	119.0	122.2	126.9	119.5	121.1	8.9
80℃, 80bar, 1 : 1	88.1	86.9	116.1	147.4	108.6	117.8	11.8
80℃, 80bar, 1 : 2	63.6	63.2	80.0	103.9	78.7	82.9	10.9
80℃, 100bar, 1 : 2	90.9	91.9	116.6	156.1	116.6	121.0	10.4

b)

	Myristic acid	Palmitoleic acid	Palmitic acid	Vaccenic acid	Oleic acid	Stearic acid	Aldehyde
Control	100	100	100	100	100	100	100
40 ℃, 100 bar, 1 : 2	89.3	89.9	122.3	156.7	118.5	129.4	20.8
40 ℃, 120 bar, 1 : 1	74.7	73.1	108.3	130.8	98.8	114.7	2.9
50 ℃, 120 bar, 1 : 1	89.1	85.9	123.5	151.2	117.1	132.5	1.6
50 ℃, 120 bar, 1 : 2	77.8	77.8	99.1	129.8	97.7	103.7	3.5
60 ℃, 100 bar, 1 : 2	80.4	80.9	106.4	139.1	104.2	112.7	15.9
60 ℃, 120 bar, 1 : 2	88.6	85.4	113.0	142.1	104.1	113.3	2.2

a) without lipase, b) with lipase

a)



b)

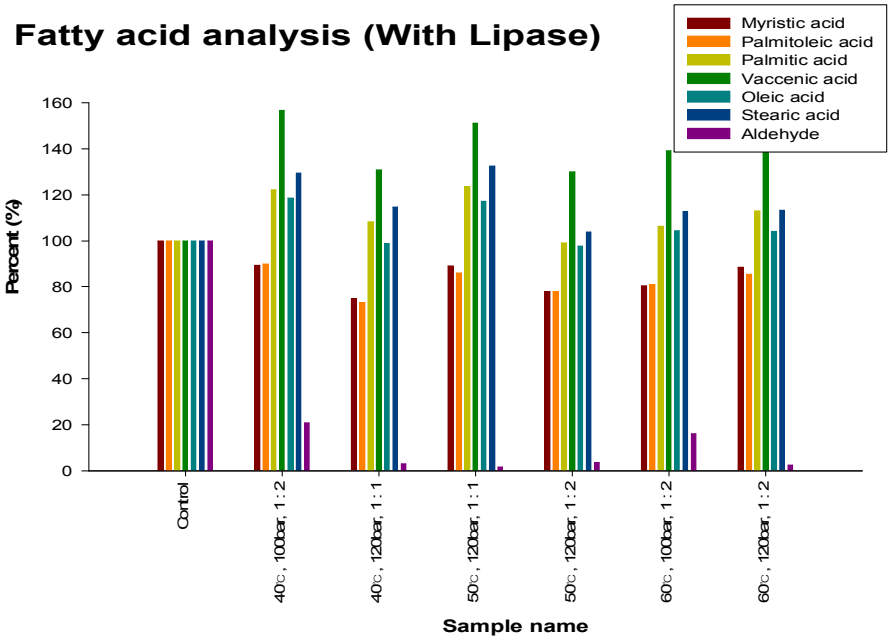


Figure 16. Fatty acid composition changes after SFE. a) without lipase, b) with

lipase.

제 4 장. 결 론

본 연구의 목적은 초임계 유체 추출 공정을 이용하여 멸치의 비린 냄새를 제거하여 단일공정의 상품을 다단계 공정을 통해 천연 조미료로 사용 가능한 고급 식품 및 고부가가치 제품을 개발하고자 하였다.

이산화탄소의 임계 온도와 임계 압력 이상을 주어 제 4 의 상태인 초임계 상태를 만들어 추출 효율을 높이고, 무독하며, 물질의 손상 없이 추출을 할 수 있는 초임계 추출의 장점을 이용하였다. 초임계 상태에서의 lipase 영향을 보기 위해 *Candida rugosa* 에서 유래된 lipase 를 사용하여 기본 반응인 가수분해반응을 이용하여 추출 전과 후의 결과를 비교하였다. 냄새 성분인 isobutylaldehyde, isovalderaldehyde, isovaleraldehyde, *n*-butylaldehyde 와 같은 aldehyde 는 head space 를 이용하여, myristic acid, palmitic acid, palmitoleic acid 와 같은 fatty acid 는 식품공전의 fatty acid 전처리 과정을 거쳐 GC/MS 를 통해 분석하였다.

Aldehyde 분석결과를 보면, lipase 가 없는 조건에서 온도조건을 변화하였을 때, 60 ℃에서는 8 ~ 44%의 aldehyde 가 남아 있으며 40 ℃에서 추출 전에 비해 약 2 ~ 92%의 aldehyde 가 남아 가장 낮은 감소율을 보였고, 80 ℃에서 추출 전에 비해 약 1 ~ 19%의 aldehyde 가 남아 가장 높은 감소율을 보였다. 압력조건을 변화하였을 때, 1 bar 에서는 85 ~ 95%의, 80 bar 에서는 10 ~ 75%의 aldehyde 가 남아 있으며, 100 bar 에서 약 10 ~ 92%가 남아 가장 낮은 감소율을 보였고, 120 bar 에서 1 ~ 44%의 aldehyde 가 남아 가장 높은 감소율을 보였다. 비율조건을 변화하였을 때, 1:1 에서는 2 ~ 88%의, 1:2 에서는 1 ~ 92%의 aldehyde 가 남아 있음을 알 수 있다. 1:2 조건에서 분석한 결과 aldehyde 의 감소율이 가장 낮은 시료와 가장 높은 시료를 모두 가지고 있음을 알 수 있다.

Lipase 가 있는 조건에서 온도조건을 변화하였을 때, 60 ℃에서는 2 ~ 81%의 aldehyde 가 남아 있으며, 40 ℃에서 추출 전에 비해 약 2 ~ 84%의 aldehyde 가 남아 가장 낮은 감소율을 보였으며, 50 ℃에서 추출 전에 비해 약 1 ~ 92%의 aldehyde 가 남아 높은 감소율을 보였다. 50 ℃의 조건에서 분석한 결과 aldehyde 의 감소율이 가장 낮은 시료와 가장 높은 시료를 모두 가지고 있음을 알 수 있다. 압력조건을 변화

하였을 때, 1 bar 에서는 85 ~ 95%의, 80 bar 에서는 4 ~ 91%의 aldehyde 가 남아 있으며, 100 bar 에서 약 16 ~ 92%가 남아 가장 낮은 감소율을 보이며, 120 bar 에서 1 ~ 41%의 aldehyde 가 남아 가장 높은 감소율을 보였다. 비율조건만 변화하였을 때, 1:1 에서는 1 ~ 92%의, 1:2 에서는 2 ~ 52%의 aldehyde 가 남아 있음을 알 수 있다. 1:1 조건에서 분석한 결과 aldehyde 의 감소율이 가장 낮은 시료와 가장 높은 시료를 가지고 있음을 알 수 있고, 1:2 조건에서는 aldehyde 의 감소율이 가장 높은 시료를 가지고 있지 않지만, 1:1 의 조건에 비해 평균적으로 높은 감소율을 보였다.

Fatty acid 분석 결과를 보았을 때, lipase 가 없는 조건에서 80 ℃, 80 bar, 1:2 의 조건에서 가장 적은 양의 fatty acid 를 지니는 것을 알 수 있다. Myristic acid 는 63.6%, palmitoleic acid 는 63.2%, palmitic acid 는 80.0%를 지니고 있으며, aldehyde 역시 10.9%의 적은 양을 가지고 있음을 알 수 있다. 60 ℃, 120 bar, 1:1 의 조건에서 가장 많은 양의 fatty acid 를 지니는 것을 알 수 있다. Myristic acid 는 124.8%, palmitoleic acid 는 119.0%, palmitic acid 는 122.2%를 지니고 있으며, aldehyde 는 80 ℃, 80 bar, 1:2 보다 적은 8.9%를 가지고 있음을 알 수 있다.

Lipase 가 있는 조건에서 50 ℃, 120 bar, 1:2 의 조건에서 가장 적은 양의 fatty acid 를 지니는 것을 알 수 있다. Myristic acid 는 77.8%, palmitoleic acid 는 77.8%, palmitic acid 는 99.1% 를 지니고 있으며, aldehyde 역시 3.52% 의 적은 양을 가지고 있음을 알 수 있다. 40 ℃, 100 bar, 1:2 의 조건에서 가장 많은 양의 fatty acid 를 지니는 것을 알 수 있다. Myristic acid 는 89.3%, palmitoleic acid 는 89.9%, palmitic acid 는 122.3%를 지니고 있으며, aldehyde 는 20.8%로 50 ℃, 120 bar, 1:2 보다 많은 양을 지니고 있음을 알 수 있다.

Lipase 가 없는 조건에서 80 ℃, 120 bar, 1:1 의 조건에서 aldehyde 의 감소율이 높음을 알 수 있고, 80 ℃, 80 bar, 1:2 의 조건에서 fatty acid 의 감소율이 높음을 알 수 있다. Lipase 가 있는 조건에서 60 ℃, 120 bar, 1:2 의 조건에서 aldehyde 의 감소율이 높음을 알 수 있고, 50 ℃, 100 bar, 1:2 의 조건에서 fatty acid 의 감소율이 높음을 알 수 있다. 또한 lipase 가 있는 조건에 비해 lipase 가 없는 조건에서 aldehyde 와 fatty acid 의 감소율이 더 높음을 알 수 있다.

참고문헌

1. Young-Woon Ju, Myung-Hwa Kang; Production of functional sesame oil by supercritical fluid extraction; *Food industry and nutrition*; 10(3), 22-29; 2005.
2. Seong-Ju Kim, Young-Jong Kim, Kyu-Seob Chang; Optimization of sesame oil extraction from sesame cake using supercritical fluid CO_2; *Koean J. Food Sci. Technol*; 37(3), 431-437; 2005.
3. Sung-Jun Boo, Sang-Yo Byun; Ethanol Modified Supercritical CO_2 Extraction of Daidzein from Soybean; *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*; 16(1), 95-98; 2001.
4. Sigma; Enzymatic assay of lipase.
5. Go-Woon Lee; M. S. dissertation; Chosun university; Korea; 2008; Transesterification reaction using immobilized lipase.
6. 한국 수산물 성분표; 국립수산과학원; 2009.
7. Jin-Ho Jo, Hae-Jin Jang, Seung-Mock Cho, Yang-Bong Lee; Effects of ethanol and organic acids on color, fishy odor and *in vitro* absorption rate of calcium of dried large anchovy; *Journal of the Korean society of food science and nutrition*; 34(9), 1472-1477; 2005.
8. Myung-Cheol Oh, Chang-Kyung Oh, Sung-Hong Kim, Soo-Hyun Kim; Analysis of dimethylamine and trimethylamine in fishes by gas chromatography; *Journal of Food Science and Nutrition*; 2(3), 197-201; 1997.
9. McGill A. S., Hardy R., Gunstone F. D.; Further analysis of the volatile components of frozen cold stored cod and the influence of these on flavor; *J. Sci. Food Agric.*; 28(2), 200-205; 1977.

10. Seok-Hee Lee, Jae-Kee Cheon, Chang-Sik Ju; Lipid extraction of sea tangle with supercritical carbon dioxide; *Food Engineering Progress*; 4(1), 19-24; 2000.
11. 이종수; 해조의 화학과 이용; 효일출판사; 2008.
12. http://blog.naver.com/lsh5479?Redirect=Log&logNo=150003950913&topReferer=http://cafeblog.search.naver.com&imgsrc=data19/2006/5/1/40/1-lsh5479.jpg
13. 쓴맛 없는 참기름, 카페인만 쏙 뺀 커피, '초임계' 물질의 마술; 2009.3.20; 동아일보; http://cbe.snu.ac.kr/?document_srl=4303
14. ㈜ GTI; http://www.egti.kr/products/products_07.htm
15. http://www.brookscole.com/chemistry_d/templates/student_resources/0030244269_campbell/HotTopics/Hibernation.html
16. Food composition table (Ⅰ); 244-245; 농촌 진흥청; 2001.
17. Food composition table (Ⅱ); 290-291; 농촌 진흥청; 2001.
18. Sun-Young Bae, Dong-Sun Lee; Multivariate analysis and gas chromatographic determine of the smelly nitro compounds in dried-fishes; *Journal of the Korean Chemical Society*; 41(2), 105-112; 1997.
19. Jirotosho Tamura, Kazumi Kitta, Takayuki Shibamoto; Formation of reactive aldehydes from fatty acids in a Fe^{2+}/H_2O_2 oxidation sysyem; J. *Food Chemistry* ; 39(3), 439-442; 1991.
20. Kangsadan Boonprab, Kenji Mastsui, Miyuki Yoshida, Yoshihiko Akakabe; C6-aldehyde formation by fatty acid hydroperoxide lyase in the brown alga *Laminaria angustata*; *Zeitschrift für Naturforschung. C. A journal of biosciences*; 58(3-4), 207-214; 2003.
21. D. Riendeau, E. Meighen; Enzymatic reduction of fatty acid and acyl-CoAs to long chain aldehydes and alcohols; *Cellular and Molecular Life Sciences*; 41(6), 707-713; 1985.

22. Jung-Ki Hong, Won-Wook So, Gwang-Je Kim, Yong-Taek Lee, Sang-Jin Moom; Esterification of Ibuprofen and alcohols using *Candida rugosa* lipase; *Theories and Applications of Chem. Eng.*; 8(2);2002.
23. Cheong-Hoon Kwon, Jeong-Yeong Jeong, Kwang Ho Song, Seon Wook Kim, Jeong-Won Kang; Molecular dynamics simulation study of lipase-catalyzed esterification of structural butanol isomers in supercritical carbon dioxide; *J. Korean Ind. Eng. Chem.*; 18(7), 643-649; 2007.
24. Z .J. Dijkstra, A.R. Doornbos, H. Weyten, J.M. Ernsting, C.J. Elsevier, J.T.F. Keurentjes; Formation of carbamic acid in organic solvents and in supercritical carbon dioxide; *J. Supercritical Fluids* ; 41(1), 109-114; 2007.
25. F. Gervais, C. Perre, S. Sarrade, L. Barna, P. Moszkowicz, S. Bargues; Partition coefficients of cobalt chelates and chelating agents between aqueous solutions and supercritical carbon dioxide; *J. Supercritical Fluids*; 27(2), 157-168; 2003.
26. Siti Machmudah, Yukari Kawahito, Mitsuru Sasaki, Motonobu Goto; Supercritical CO2 extraction of rosehip seed oil: Fatty acids composition and process optimization; *J. Supercritical Fluids*; 41(3), 421-428; 2007.
27. Fern A. Bullard, Jeff Collins; An Improved Method to analyze trimethylamine in fish and the interference of ammonia and dimethyl amine; *Fishery Bulletin*; 78(2), 465-473;1980.
28. F. Montanes, N. Corzo, A. Olano, G. Reglero, E. Ibanez, T. Fornari; Selective fractionation of carbohydrate complex mixtures by supercritical extraction with CO_2 and different co-solvents; *J. Supercritical Fluids*; 45(2), 189-194; 2008.
29. Chunhui Deng, Ning Yao, Ning Li, Xiangmin Zhang; Headspace single-drop microextraction with in-drop derivatization for aldehyde analysis; *J. Separation Science*; 28(17),2301-2305, 2005.

30. Sook-ja Yun, Myung-woo Byun, Myung-sook Jang ; Volatile Aroma Components and Fatty acid in fruit of *Broussonetia Kazinoki* Siebold; *J. the Korean Society of Food Science and Nutrition*; 23(1), 130-136; 1994.
31. Min-Jung Wie, Ji-Hae Seong, Keon-Wook Jeon, Heon-Sang Jung, Jun-Soo Lee; Comparison of Vitamin E, Phytosterols and Fatty Acid Composition in Commercially Available Grape Seed Oils in Korea; *J. the Korean Society of Food Science and Nutrition*; 37(7), 953-956; 2008.
32. Min-Ji Kim, Bae Nahmgung, Bok-Nam Kim, Soo-Jeong Lee, Chul-Jin Kim, Yong-Jin Cho, Chong-Tai Kim; Preparation and Physicochemical Characteristics of Anchovy Hydrolysates Produced by High Hydrostatic Pressure and Enzymatic Hydrolysis Treatment; *Food Engineering Progress*; 13(2), 85-91; 2009.
33. Byung-Soo Chun, Sung-Ok Yoon, Seung-Jin Lee; Processing of protein concentrate and fatty acid extraction from tuna viscera using supercritical carbon dioxide; *The Korean Society of Fisheries and Aquatic Science*; 34(3), 207-212; 2001.
34. Sung-Jin Kim, Min-Kyung Lee, Sung-Sin Back, Byung-Soo Chun; Extraction and Identification of Volatile Isothiocyanates from Wasabi using Supercritical Carbon Dioxide; *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*; 22(3), 174-178; 2007.
35. In-Sook Kang, Hyun-Seok Youn, Ji-Yeon Park, Byung-Soo Chun; Extraction of β-carotene from Ascidian Tunic (Halocynthia roretzi) using Supercritical Carbon Dioxide and Co-solvent; *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*; 21(3), 194-198; 2006.
36. Won-Young Lee; Supercritical fluid extraction of aromatic compound; *J. the Korean Society of Food Science and Nutrition*; 6(2), 13~19; 2001.

37. Beung-Ho Ryu, Kyung-Ja Cho; Process condition of valuable compound for benign prostatic hyperplasia(BPH) from saw palmetto by supercritical CO_2; *Korean J. of Life Science*; 13(5),569-575; 2003.
38. Gui-Jae Yoo, Sung-Dong Lee, Man-Jin In, Woo-Ik Hwang, Kwang-Seung Lee, Eun-Sil Lee, Dong-Chung Kim, Hee-Jeong Chae; An alternative sequential extraction process for maximal utilization of bioactive components from Korean red ginseng; *Korean J. Chem. Eng.*; 26(4), 1094-1097; 2009.
39. Kwang-Sup Youn, Joo-Heon Hong, Yong-Hee Choi; Optimization for Extraction of Sancho (*Zanthoxylum schinifolium*) Extraction using Supercritical Carbon Dioxide; *Food Engineering Progress*; 10(4) 207-213; 2006.

저작물 이용 허락서

학 과	화학공학과	학 번	20097069	과 정	석 사
성 명	한글: 류 지 순 한문: 柳 志 珣 영문: Ji-Soon, Ryu				
주 소	광주 광역시 동구 계림 2 동 금호 A 104 동 301 호				
연락처	e-mail : rjs0503@hanmail.net				
논문제목	효소반응과 초임계 유체 추출을 활용한 비린취 제거 및 추출 후 영양성분의 변화				
	Use of enzyme reaction and supercritical extraction for the removal of fishy odor and composition change of aldehyde and fatty acid in anchovy				

본인이 저작한 위의 저작물에 대하여 다음과 같은 조건 아래 조선대학교가 저작물을 이용할 수 있도록 허락하고 동의합니다.

- 다 음 -

1. 저작물의 DB 구축 및 인터넷을 포함한 정보통신망에의 공개를 위한 저작물의 복제, 기억장치에의 저장, 전송 등을 허락함.
2. 위의 목적을 위하여 필요한 범위 내에서의 편집과 형식상의 변경을 허락함. 다만, 저작물의 내용변경은 금지함.
3. 배포・전송된 저작물의 영리적 목적을 위한 복제, 저장, 전송 등은 금지함.
4. 저작물에 대한 이용기간은 5 년으로 하고, 기간종료 3 개월 이내에 별도의 의사 표시가 없을 경우에는 저작물의 이용기간을 계속 연장함.
5. 해당 저작물의 저작권을 타인에게 양도하거나 출판을 허락을 하였을 경우에는 1 개월 이내에 대학에 이를 통보함.
6. 조선대학교는 저작물 이용의 허락 이후 해당 저작물로 인하여 발생하는 타인에 의한 권리 침해에 대하여 일체의 법적 책임을 지지 않음.
7. 소속 대학의 협정기관에 저작물의 제공 및 인터넷 등 정보통신망을 이용한 저작물의 전송・출력을 허락함.

동의여부 : 동의( ) 반대(●)

2011 년 2 월

저 작 자 : 류 지 순 (서명 또는 인)

조선대학교 총장 귀하