

## 초임계 이산화탄소를 이용한 가다랑어내장으로부터 지방산 추출 및 단백질 농축물의 제조

전병수\* · 윤성옥 · 이승진  
부경대학교 식품생명공학부, 수산식품연구소

## Processing of Protein Concentrate and Fatty Acid Extraction from Tuna Viscera using Supercritical Carbon Dioxide

Byung-Soo CHUN<sup>1)</sup>, Sung-Ok YOON and Seung-Jin LEE  
Faculty of Food Science & Biotechnology, Pukyong National University/  
Institute of Seafood Science, Pusan 608-737, Korea

Supercritical fluid extraction was explored as a method for removing lipids and bad odor from tuna viscera. Selected conditions of extraction pressure, time, temperature and sample size were evaluated for effective removal of lipids and bad odor. Supercritical carbon dioxide was used as a solvent and the extraction was performed at semi-batch flow type. The experimental conditions used in this work was the range of pressure from 1,500 psig to 2,000 psig, the temperature from 25°C to 40°C and dried sample size from 0.2 mm to 1.0 mm. The main fatty acids extracted from tuna viscera were palmitic acid (16:0), heptadecenoic acid (17:1) oleic acid (18:1) and docosahexaenoic acid (22:6). Protein concentrate was obtained without deformation the optimum condition at 35°C, 1,800 psig and 0.25 mm of the size. In the concentrate after supercritical carbon dioxide extraction, the major amino acids were glutamic acid, leucine and lysine.

**Key words:** Supercritical carbon dioxide, Tuna viscera, Fatty acid, Amino acids

### 서 론

삼면이 바다인 우리나라는 어패류나 해조류 등의 수산물이 식량자원면에서 큰 비중을 차지하고 있으며, 식품산업분야에 있어서 수산물을 원료로 한 제품은 우수하고 유용한 성분을 함유하고 있어 건강식품으로 수요량이 매년 증가하고 있는 추세이다. 특히 적색어류는 DHA, EPA 그리고 고단백질을 함유하고 있어 수산제품의 큰 비중을 차지하고 있으나, 적색어류의 어육의 내장이나 머리 부분은 사료, 산업폐기물 등으로 이용되고 있다. 한편 단백질 농축물(FPC)은 어류로부터 내장이나 아가미를 제거한 뒤 어육만을 이용하여 제조한 것으로 어류단백질의 보존성을 높이고, 식용 가능한 형태로 처리하여 유통의 목적으로 제조하여 상업화되고 있으나, 단백질 변성으로 인한 생산원가의 감소, 불쾌취, 쓴맛을 함유하고 있어 실제 현 공정으로는 식용으로 이용하기 어려운 실정에 있다 (박영호 등, 1995).

초임계 추출법은 임계점 이상의 영역에서 수행되며, 초임계 유체의 물리적 특성에 의한 혼합성분 중 특정성분의 분리 효능 및 고순도 정제 제품을 생산할 수 있는 공정으로 식품 및 의약품 산업에서 기능성 물질, 생리활성물질 등에 많이 응용되고 있는 새로운 분리기술의 하나이다 (Lee and Lee, 1983; Cocero and Calvo, 1996; McHugh and Krukoni, 1986; Palmer and Ting, 1995; Paulaitis et al., 1982). 한편, Hardardottir and Kinsella (1988), Dunford et al. (1997)은 초임계 추출법을 사용하여 어육에 존재하는

지방산, 콜레스테롤을 제거 한 후 식용으로 이용 가능한 어육 단백질 농축물을 제조한 바 있다.

가다랑어 내장을 동결 건조하여 단백질의 변성 없이 지방산을 선택적으로 분리하고 이취를 제거할 경우 단백질과 지질을 식품 및 사료의 소재로 이용할 수 있다고 생각한다. 따라서 본 연구에서는 산업 폐기물로 버려지는 가다랑어의 내장을 식품 및 양식사료 소재로 이용할 목적으로 초임계 이산화탄소로 가다랑어 내장 지질의 최적 추출 조건을 규명하고자 시도하였으며, 추출 지방산과 농축 단백질의 성분에 대하여 검토하였다.

### 재료 및 방법

#### 시료 전처리

본 실험에 사용된 가다랑어 내장은 1999년 8월에 창원 소재 (주)동원산업으로부터 제공받아 -50°C, 5 μHg의 조건에서 동결건조하여 분쇄한 후 -70°C의 심은 냉동고에 보관하여 사용하였다.

#### 분 석

이산화탄소는 순도 99.9%의 식품용을 사용하였으며, 분석용 시약은 특급시약을 사용하였다. 지방산의 분석은 lipid standard (fatty acid methyl ester mixture: Sigma co., 189-19)를 사용하여 비교 분석하였다.

#### 추출장치 설계

가다랑어 내장으로부터 지질을 제거하여 농축단백질을 생산하기

\*Corresponding author: bschun@mail.pknu.ac.kr

위한 초임계 추출장치는 Fig. 1에 나타내었다. 추출조는 ss-316으로 제작된 내경 2.9 cm, 150 mL용량으로 6,000 psig의 압력, 150°C의 온도 범위를 유지할 수 있도록 설계되었고, 추출조와 연결된 관은 6.35 mm와 0.318 mm의 ss-316 튜브를 사용하였다. 용매인 액체 이산화탄소를 초임계 압력으로 변환시키는 정량 고압펌프는 51.4 MPa의 용량을 가진 Milton Roy Pump를 이용하여 추출탑으로 유입되는 이산화탄소의 유량을 정량적으로 유입시켰고, 고압상태로 추출탑에 출입되는 초임계 이산화탄소의 온도는 digital temperature measuring (Wavetek사, model No: 461-112020. USA)에 의해 측정되었으며, 추출탑의 압력은 Heise Gauge ( $\pm 0.14$  MPa)에 의해 측정되었다.

#### 지질 추출 방법

Fig. 1에 나타낸 실험에 사용된 초임계 추출 장치는 반회분식 (semi-continuous flow) 형태로 설계되었으며, 동결 건조된 가다랑어를 약 0.25 mm 크기로 분쇄하여 추출조에 충전시킨 후 액체 상태인 이산화탄소는 실린더로부터 냉각기 ( $-20^{\circ}\text{C}$ )를 통과시켜 이산화탄소내에 존재하는 기포를 제거하여 효율적으로 정량 고압 펌프에 의해 일정한 유량으로 유입되어 시스템 내의 설정 압력까지 수행되어지고, 이산화탄소가 추출조에 유입되기 전 열교환기에 의해 예열되어 설정된 추출온도에 도달했는지를 K-type의 열전대로 감지하였다. 설정된 초임계 이산화탄소는 추출탑내의 가다랑어에 존재하는 지질을 추출하여 압력조절 밸브에 의해 추출용매인 이산화탄소와 추출용질인 지방산은 분리기조에서 분리되어 지방산은 분리조에 침적되고 기화된 이산화탄소는 건식 유량계에 의해

추출공정 동안 사용된 이산화탄소의 양이 측정된 후 대기로 방출시켰다.

#### 지방산조성의 분석

추출된 시료 0.2 g을 AOAC법 (1997)으로 methyl ester화 한 후에 1  $\mu\text{L}$ 를 gas-chromatography (Hewlett Packard 5890II, USA)에 주입하여 분석하였으며, column은 Hp-Innowax (Fused crosslinked polyethylene glycol Column, 30 m $\times$ 0.32 mm i.d., 0.15  $\mu\text{m}$  film thickness, Hewlett Packard, USA)를 사용하였다.

#### 단백질 함량 측정

추출탑 내에 남아있는 추잔물은 spectrophotometer (UV-con 933 series, Kontron, Italy)를 사용하여 562 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 측정결과를 표준곡선과 비교하여 정량하였다.

#### 아미노산 분석

동결 건조한 참치내장 및 초임계 이산화탄소 처리한 참치내장의 구성 및 유리아미노산을 분석했다. 구성 아미노산은 분쇄한 시료를 6 N HCl로 처리 후 농축하고 희석용액 (pH 2.2)으로 50 mL로 정용하여 여과 후 분석하였다. 유리아미노산은 추출 잔사를 TCA 법으로 전처리 한 다음 아미노산 자동분석기 (S433 A.A. (SYKAN)로 분석하였으며, column size은 4 $\times$ 150 mm, resin Li<sup>+</sup> form, analysis cycle time 160 min, flow rate (buffer: 0.45 mL/min, ninhydrin: 0.25 mL/min)의 조건에서 분석하였다.

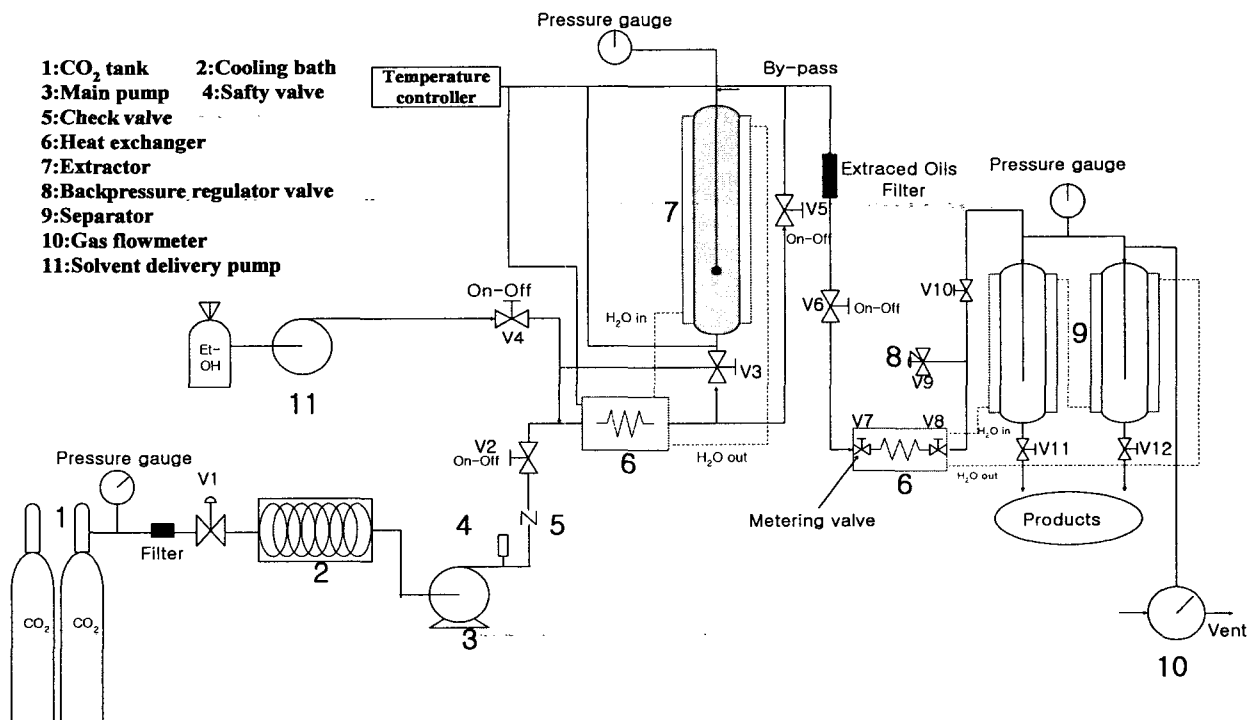


Fig. 1. Schematic diagram of supercritical fluid process.

모델실험

본 실험은 초임계 이산화탄소 유속 50 mL/min, 추출시간 20~120분, 추출온도 25~40°C, 추출압력 1,500~2,000 psig, 시료 입자 크기 0.25~1.0 mm의 범위에서 수행되었다.

결과 및 고찰

가다랑어내장으로부터 지질 추출

초임계 이산화탄소 유속 50 mL/min에서 추출시간, 온도, 압력, 시료입자 크기에 따른 지질 추출효율을 Fig. 2, 3, 4, 5에 나타내었다. 지질의 추출효율은 추출시간 60분대, 압력 1,800 psig, 온도 35°C, 입자크기 0.25 mm에서 약 97% 이상이었으며, 추출 시간이 증가할수록 지질추출효율도 증가하다가 약 60분대에서 지질이 거의 모두 추출되었다. Fig. 3은 압력과 온도에 따른 지질추출효율을

나타낸 것으로, 압력이 증가할수록 온도가 높을수록 추출효율이 높음을 알 수 있었다 (Konosu et al., 1986). 그러나 40°C에서는 추출효율이 떨어졌는데, 이는 압력이 일정할 때 온도가 증가함에 따라 초임계 이산화탄소의 밀도가 작아져 용질인 지질에 대한 용해력이 감소하였기 때문이었다 (Ling and Yeh, 1991). 일정한 온도에서 1,800 psig 압력까지는 지질추출 효율이 증가하다가 2,000 psig에서는 감소하는 retrograde현상이 나타났다 (Staby and Mollerup, 1993). 이와 같은 현상은 온도가 일정한 상태에서 초임계 이산화탄소의 용해능력의 경우 압력이 증가함에 일반적으로 증가하지만 원료내에 존재하는 지질이 표면에서 거리가 먼 입자의 중심부근에 존재하는 용질에 접근할 경우 전달속도에 큰 영향을 미치는 확산계수 및 점도의 성질이 높은 밀도를 지닌 용매에서는 침투력이 작아져 지질 추출 효율이 상대적으로 낮아졌기 때문이었다. Fig. 4는 시료입자크기에 따른 지질추출효율로써 입자크기가

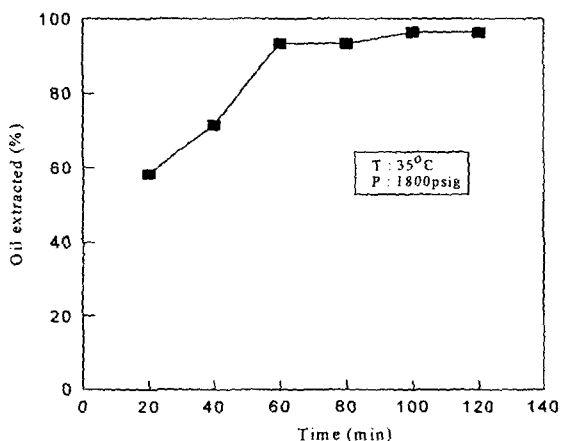


Fig. 2. Effect of time on extraction efficiency at constant temperature and pressure. Flow rate: 50 mL/min, Size: 0.25 mm.

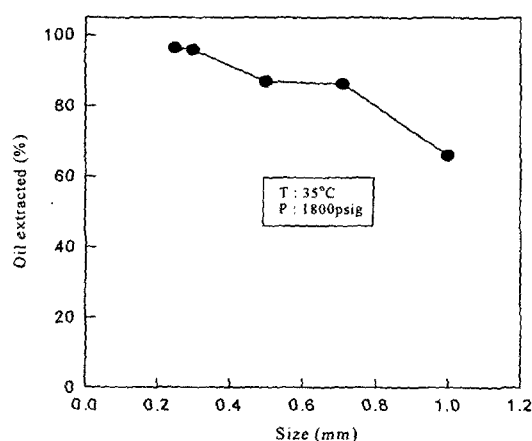


Fig. 4. Effect of size on extraction efficiency at constant temperature and pressure. Flow rate: 50 mL/min, Extracted time: 60 min.

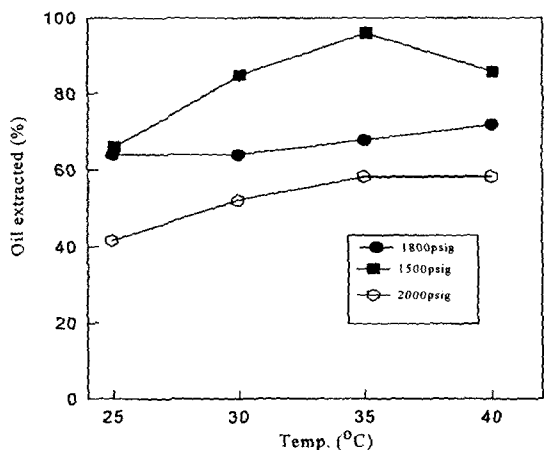


Fig. 3. Effect of temperature on extraction efficiency at different pressure. Flow rate: 50 mL/min, Extracted time: 60 min, Size: 0.25 mm.

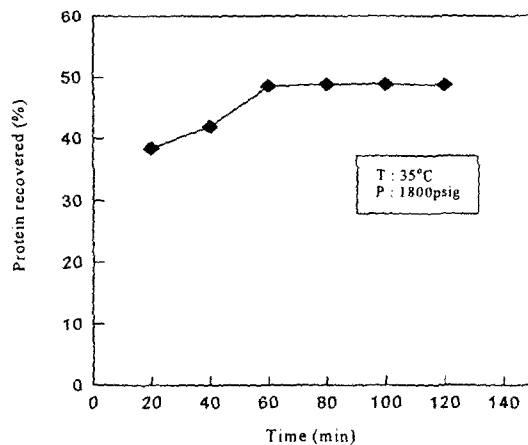


Fig. 5. Effect of time on extraction efficiency at constant temperature and pressure. Flow rate: 50 mL/min, Size: 0.25 mm.

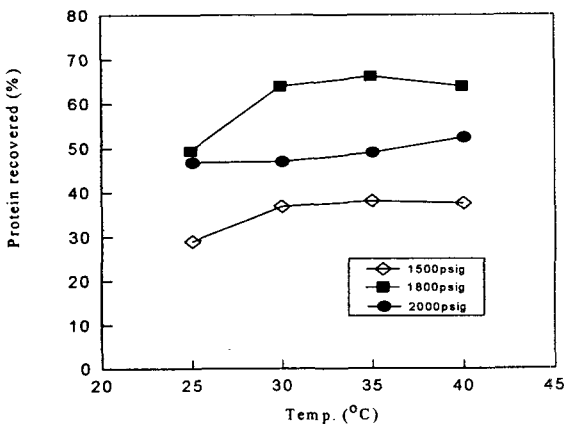
작을수록 추출효율이 높았다. 이는 입자크기가 작을수록 초임계 이산화탄소와 접촉하는 면적이 커서 침투력이 우수하고 용매력이 크기 때문이라 생각되었다(Kang et al., 1999).

**단백질 함량 측정**

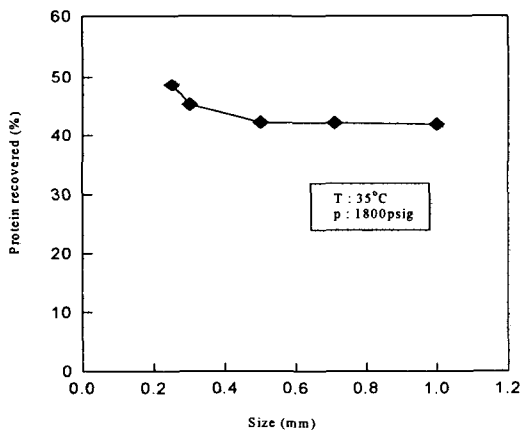
초임계 이산화탄소 유속 50 mL/min에서 추출시간, 온도, 압력, 시료입자 크기에 따른 단백질 함량을 측정하였다. Fig. 5는 시간에 따른 단백질 함량을 나타낸 것으로 시간이 경과할수록 증가하여 60분대에서 단백질 함량이 약 50%이었고, 그 이상의 시간경과에는 변화가 없었으며, 지질의 추출량이 많을수록 단백질 함량이 높았다. Fig. 6, 7은 압력과 온도, 입자크기에 따른 단백질 함량을 나타낸 것으로 1,800 psig, 35°C, 0.25 mm에서 단백질 함량이 약 66%로 가장 높았다.

**추출 지방산의 조성**

초임계 이산화탄소 추출장치에서 수행된 각 추출 조건에 따른 지



**Fig. 6.** Effect of temperature on extraction efficiency with a different pressure. Flow rate: 50 mL/min, Extracted time: 60 min, Size: 0.25 mm.



**Fig. 7.** Effect of size on extraction efficiency at constant temperature and pressure. Flow rate: 50 mL/min, Extracted time: 60 min.

방산 성분의 결과를 Table 1에 나타내었다. 추출 지질의 주요 지방산은 16:0, 18:1 등이었다. 16:0의 경우 1,500 psig 및 1,800 psig에서는 대체로 감소하는 경향이었으나, 2,000 psig의 경우 예외이었다. 그러나 18:0 및 18:1의 경우 압력 및 온도 변화에 따른 일정한 경향을 나타내지 않았다. 한편, 근년에 건강 기능성을 인정받고 있는 n3계 지방산인 DHA는 압력 2,000 psig, 온도 25°C에서 12.7%로 가장 높은 추출효율을 보였다.

**Table 1.** Fatty acid compositions of tuna viscera oil extracted by supercritical carbon-CO<sub>2</sub> at different temperatures and pressures

Pressure (psig)	Temperature (°C)	Fatty acids (area %)									
		14:0	16:0	16:1	17:0	17:1	18:0	18:1	20:5	22:6	
Control*	35	-	1.4	-	34.5	4.0	2.6	0.9	1.5	-	
1,500	25	2.0	33.2	4.3	2.0	5.6	10.1	14.5	1.0	4.1	
	30	1.8	39.6	3.6	1.8	0.6	11.5	16.8	0.8	2.7	
	35	1.6	24.9	3.0	1.6	4.6	8.4	11.0	0.6	1.7	
	40	1.0	23.5	1.4	0.9	0.5	0.6	5.7	0.1	1.0	
1,800	25	1.5	30.0	2.6	1.7	6.1	0.1	10.1	0.7	0.4	
	30	1.4	29.5	2.8	1.4	2.3	0.7	12.5	0.5	1.6	
	35	1.1	22.0	2.6	1.9	6.1	0.5	10.8	1.1	0.2	
	40	0.6	13.5	1.0	0.8	0.2	1.1	4.2	-	-	
2,000	25	1.7	30.2	2.7	1.6	3.6	-	10.2	-	12.7	
	30	0.6	16.7	1.4	0.8	0.9	-	7.3	0.2	5.8	
	35	1.0	25.4	1.9	1.7	2.6	-	8.6	0.3	0.6	
	40	2.0	43.0	3.6	2.5	4.3	13.8	15.3	0.3	0.3	

\*Untreated tuna viscera

**유리 및 구성 아미노산 분석**

초임계 이산화탄소처리 참치 내장 단백질 농축물의 유리아미노산 함량은 Table 2와 같다. 유리아미노산의 총 함량은 초임계 이산화탄소 처리구가 8.93 g/100 g으로 무처리구의 11.73 g/100 g 보다 낮았는데, 이는 초임계 이산화탄소 처리시 일부 유리아미노산이 유실되었기 때문이라 생각되었다. 초임계 이산화탄소 무처리 내장 단백질의 경우 함량이 많은 유리아미노산으로는 glutamic acid, leucine, alanine 등이었고, 근년에 건강 기능적으로 주목을 받고 있는 taurine의 함량도 0.72 g/100 g으로 높았다. 한편, 초임계 이산화탄소 처리 내장 유래 농축단백질의 경우 함량이 많은 유리아미노산으로는 taurine (1.44 g/100 g), 그리고 무처리 내장 단백질에 함량이 많았던 leucine, glutamic acid 등이었다. 특히 taurine의 경우 초임계 이산화탄소 처리 제품이 무처리 제품에 비하여 약 2 배로 많았다. 이상의 유리아미노산 결과로 미루어 보아 초임계 이산화탄소 처리 참치 내장 단백질 농축물의 경우 맛을 느낄 수 있는 최저농도가 낮은 glutamic acid의 함량이 많아 감칠맛을 내면서, taurine의 함량이 높아, 맛이 좋으면서도 건강 기능이 기대되었다.

초임계 이산화탄소처리 참치 내장 단백질 농축물의 구성아미노산 함량은 Table 3과 같다. 구성아미노산 총 함량은 초임계 이산화탄소 처리 제품의 경우 66.01 g/100 g으로 무처리 제품의 57.78 g/100 g에 비하여 높았는데, 이는 초임계 이산화탄소처리에 의해 참

**Table 2. Free amino acid content of tuna viscera treated and untreated with supercritical CO<sub>2</sub> (g/100 g sample)**

Free amino acids	Untreated tuna viscera	Treated tuna viscera
Phosphoserine	—	—
Taurine	0.724	1.440
Aspartic acid	0.505	0.466
Threonine	0.578	0.409
Serine	0.560	0.419
Asparagine	—	—
Glutamic acid	1.151	0.792
$\alpha$ -aminoapicid acid	—	—
Proline	0.578	0.440
Glycine	0.357	0.252
Alanine	0.951	0.680
Valine	0.574	0.389
Cystine	—	—
Methionine	0.377	0.213
Isoleucine	0.581	0.425
Leucine	1.204	0.829
Tyrosine	0.578	0.416
NH <sub>3</sub>	0.082	0.054
Ornithine	0.066	0.038
Lysine	0.790	0.487
1-methylhistidine	—	—
Histidine	0.569	0.284
3-methylhistidine	—	—
Phenylalanine	0.676	0.447
Carnosine	—	—
Arginine	0.829	0.468
Total	11.731	8.926

**Table 3. Amino acid contents of tuna viscera treated and untreated with supercritical CO<sub>2</sub> (g/100 g sample)**

Amino acids	Untreated tuna viscera	Treated tuna viscera
Aspartic acid	4.91	5.71
Threonine	2.68	3.06
Serine	1.94	2.24
Glutamic acid	7.61	8.62
Proline	2.27	2.93
Glycine	2.41	2.53
Alanine	3.26	3.69
Valine	3.72	4.03
Methionine	1.93	2.70
Isoleucine	3.10	3.60
Leucine	5.21	5.97
Tyrosine	2.29	2.50
Phenylalanine	2.31	2.99
Histidine	2.96	3.03
Lysine	5.55	6.07
NH <sub>3</sub>	1.07	1.31
Arginine	4.56	5.04
Total	57.78	66.01

치 내장 중의 지질이 제거되어, 상대적으로 단백질이 농축되었기 때문이라 판단되었다. 초임계 이산화탄소처리 참치 내장 단백질 농축물의 구성아미노산 중 함량이 많은 것으로는 glutamic acid (8.62 g/100 g), leucine (5.97 g/100 g), lysine (6.07 g/100 g) 등이었다. 따라서 초임계 이산화탄소처리 참치 내장 단백질 농축물은 곡류 제한 아미노산인 lysine이 다량 함유되어 있어 곡류를 주식으로 하는 우리나라 사람들이 섭취하는 경우 영양적으로 의미가 있리라 판단되었다. 그리고, 초임계 이산화탄소처리 참치 내장 단백질 농축물은 이들 주요 아미노산 이외에 기타 아미노산의 경우도 골고루 함유되어 있어 식품 소재 및 사료의 단백질 공급원으로 적절하리라 판단되었다.

## 요 약

초임계 이산화탄소를 이용한 가다랑어 내장으로부터 지방산 추출 및 단백질 농축물의 제조를 위하여 초임계 추출장치의 조건을 압력 1,500~2,000 psig, 온도 25~40°C으로 하여 추출실험을 하였다. 유속 50 mL/min, 압력 1,800 psig, 온도 35°C, 입자크기 0.25 mm에서 약 97% 이상의 지질 추출효율을 보였고, Fig. 5와 6에서 알 수 있듯이 압력 1,800 psig, 온도 35°C, 입자크기 0.25 mm의 조건에서 지질을 제거함으로 인하여 약 50%의 단백질이 회수되었고 대부분의 이취가 제거된 것을 관능적으로 확인할 수 있었다. 이 조건에서 추출된 지질의 주요 지방산으로는 palmitic acid (16:0), oleic acid (18:1) 등이었고, 주요 유리 아미노산은 taurine 등이었으며, 주요 구성 아미노산은 glutamic acid, leucine, lysine 등이었다.

## 감사의 글

이 논문은 1999년도 동원학술 연구재단 연구비에 의하여 수행된 결과로 이에 감사 드립니다.

## 참 고 문 헌

- Cocero, M.J. and L. Calvo. 1996. Supercritical fluid extraction of sunflower seed oil with CO<sub>2</sub>-ethanol mixtures. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 73, 1573~1578.
- Cunnif, P. 1997. Official method of analysis of AOAC international, Chap 4, 13~15.
- Dunford, N.T., F. Temelli and E. Leblance. 1997. Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of oil and residual proteins from Atlantic mackerel as affected by moisture content. *J. Food Sci.*, 62, 289~292.
- Hardardottir, I. and J.E. Kinsella. 1988. Extraction of lipid and cholesterol from fish muscle with supercritical fluids. *J. Food Sci.*, 3, 1656~1661.
- Kang, S.S., B.J. Kim and B.S. Chun. 1999. Recovery of high unsaturated fatty acid from squid processing wastes using supercritical carbon dioxide extraction method. *J. Korean Fish. Soc.* 32, 217~222.
- Konosu, T., Kokura, H., Yamamoto, M., Kosaka and K. Hata. 1986. Supercritical carbon dioxide extraction of oils from antarctic krill.

- J. Agric. Food Chem., 34, 904~907.
- Lee, Y.Y. and H. Lee. 1983. Extraction with Supercritical Gases. Chemical industry and technology., 1, 129~128 (in Korean).
- Liang, J.H. and A. Yeh. 1991. Process conditions for separating fatty acid esters by supercritical CO<sub>2</sub>. J. Am. Oil Chem. Soc., 68, 687~693.
- McHugh, M.A. and V.J. Krukoni. 1986. Supercritical fluid extraction principles and practice, 2nd ed., Butterworth-Heinemann. 200~204.
- Palmer, M.V. and S.S.T. Ting. 1995. Applications for supercritical fluid technology in food processing. Food Chem., 52, 345~351.
- Paulaitis, M.E., V.J. Krukoni, R.T. Krunik and R.C. Reid. 1982. Supercritical Fluid Extraction. Rev. Chem. Engr., 1, 179~183.
- Staby, A. and J. Mollerup. 1993. Solubility of fish oil fatty acid ethyl esters in sub and supercritical carbon dioxide. J. Am. Oil Chem. Soc., 70, 583~588.
- 박영호, 장동석, 김선봉. 1995. 수산가공 이용학. 형설출판사, 993~994.

---

2001년 1월 30일 접수

2001년 4월 13일 수리