

## 물고기 기름의 가수분해에 대한 수학적 모형 개발

김원호 · 이용훈 · 박지숙 · † 허병기

인하대학교 공과대학 생명화학공학부

(접수 : 2005. 2. 8., 게재승인 : 2005. 4. 23.)

## Development of Mathematical Model for the Hydrolysis Fish Oil

Won-Ho Kim, Yong-Hoon Lee, Ji-Suk Park, and Byung-Ki Hur†

Department of Biological and Chemical Engineering, College of Engineering, Inha University, Incheon 402-751, Korea

(Received : 2005. 2. 8., Accepted : 2005. 4. 23.)

The functional relationship between the number of mole of an i-fatty acid ( $S_i$ ) included in fish oil and the hydrolysis time( $t$ ) was expressed as a mathematical model,  $S_i = -\alpha_i \ln(t) + \beta_i$ . The average errors of calculated values on the basis of the measured values were distributed in the range of less than 5% for all the 15 fatty acids composing of fish oil. The equation of hydrolysis rate of each fatty acid was deduced as  $v_i = \gamma_i \exp\left(\frac{S_i}{\alpha_i}\right)$  from the above-mentioned  $S_i = -\alpha_i \ln(t) + \beta_i$ . Therefore the hydrolysis yields of fatty acids were analyzed using the equation of  $S_i$  vs.  $t$ . The 15 fatty acids were categorized into 4 groups from the view point of hydrolysis yield. The hydrolysis yields of the first group, including C14:0, C16:0, C16:1, C18:0, C18:1 (n-7) and C18:1 (n-9), were higher than 70% at 48 hr of hydrolysis. Those of the second group, C20:1, C22:1, C18:3, C20:4 and C20:5, were distributed from 40% to 60%, and third group were around 30%. The final group containing only C22:6 was very hard to be hydrolyzed and the yield was less than 20% at the same time.

**Key Words :** Hydrolysis, hydrolysis yield, equation of hydrolysis rate, mathematical model, fatty acid

### 서 론

고도불포화지방산 (polyunsaturated fatty acids, PUFAs) 중 n-3 족의 eicosapentaenoic acid (EPA), arachidonic acid (AA)와 docosahexaenoic acid (DHA)는 임상적 효과로 인하여 많은 연구자들의 관심의 대상이 되어왔다. 특히 탄소수가 22개이며, 이중결합수가 6개인 DHA는 망막과 뇌를 구성하고 있는 인지질의 주요성분으로 중앙신경 시스템의 필수 성분으로 알려져 있다. 인간을 포함한 포유동물은 체내에서 자체적으로 EPA, AA 및 DHA 등을 합성할 수 없기 때문에 자연으로부터 이들 고도불포화지방산을 음식물로 섭취하여야 한다. 식물체가 생합성하는 고도불포화지방산은 제한되어 있기 때문에, 필요한 고도불포화지방산은 대부분 해산물로부터 섭취한다. 해산물 중 물고기 기름은 물고기의 종류 및 물고기 구성기관에 따라서 10 내지 30%의 고도불포화지방산을 포

함하고 있어서 인체가 생합성할 수 없는 고도불포화지방산 섭취의 가장 중요한 자원이다(1).

사슬의 길이가 긴 n-3족의 고도불포화지방산은 불안정하여, 가열하거나 공기와 접촉하게 되면 산화반응, cis-trans 이성화 반응 및 이중결합의 전이 등에 의하여 고도불포화지방산의 cis n-3 구조가 파괴된다(2). 따라서 반응조건이 상온 및 상압인 생체촉매 효소를 사용하여, EPA, AA 및 DHA 등의 고도불포화지방산의 농도를 증가시키는 공정개발이 많은 연구자들에 의하여 수행되고 있다(1-4).

지질의 가수분해 효소인 리파제는 기질과의 반응특이성에 따라서 위치 특이성 (positional specificity), 아실체인 특이성 (acyl chain specificity), 부분 글리세라이드 분해특이성, 인지질 및 지단백질 분해 특이성으로 구분된다(1, 5). 위치특이성을 나타내는 리파제로는 *Rhizopus Javanicus* lipase(6), *Rhizopus niveus* lipase(7) 및 *Aspergillus niger* lipase(1) 등이 있으며 이들은 주로 지질을 구성하고 있는 글리세롤 탄소의 1과 3의 위치에만 작용하여 가수분해반응을 일으키는 1,3-위치특이성을 나타내고 있다. 아실체인 특이성을 나타내는 리파제로는 *Mucor miehei* lipase(8), *Candida cylindracea* lipase 및 *Rhizopus arrhizus* lipase(9) 등이 있으며, 이들 리파제는 지질을 구성하는 지방산의 탄소수, 이중결합 수에 따라서 반

† Corresponding Author : Department of Biological and Chemical Engineering, College of Engineering, Inha University, Incheon 402-751, Korea

Tel : +82-32-860-8676, Fax : +82-32-872-4046,

E-mail : biosys@inha.ac.kr

응속도를 달리하는 특성을 나타내고 있다(2). 부분글리세라이드 분해특성을 나타내는 리파제는 트리글리세라이드보다 디글리세라이드나 모노글리세라이드를 분해하는 속도가 훨씬 큰 반응특성을 나타내고 있으며, 인지질 및 지단백질을 분해하는 특성의 리파제는 대부분 반응속도가 느리고 1,3-위치 특이성을 나타낸다(3).

현재까지 많은 연구자들에 의하여 지질의 가수분해 특성에 대한 연구가 심도있게 수행되어 왔으나, 반응 메카니즘과 가수분해 반응을 위한 수학적 해석에 관한 연구는 거의 수행되지 아니하였다. 단일 기질에 대한 효소반응 메카니즘은 1902년 Henri에 의하여 제안되었으며, Michaelis-Menten에 의하여 수정 보완되어 현재까지 널리 사용되어지고 있다(10). 효소의 복수지질에 대한 속도론적 이론은 Alberti, Dalziel, Cleland와 Wong 등에 의하여 제안되어 사용되어지고 있다(11). 그러나 지질과 같이 한 분자에 여러 가지 다른 성분이 내포되어 있는 경우에 대한 효소반응 메카니즘과 속도론적 이론은 정확히 구축되어 있지 아니하다.

본 연구에서는 아실체인 특이성을 지닌 *Candida cylindracea* 유래의 Lipase-OF 360,000의 지방산 종류에 따른 가수분해 반응의 수학적 모형 개발, 가수분해 시간에 따른 가수분해율 분석, 그리고 동일 가수분해율에 소요되는 지방산 종류별 시간을 분석하였다.

## 재료 및 방법

### 효소

*Candida cylindracea* 유래의 Lipase-OF 360,000을 일본 MEITO SANGYO社에서 구입하였다. 이 리파제는 360,000 U/g의 매우 높은 활성을 갖고 있으며, 산성용액 내에서도 활성을 잃지 않는 특성을 지니고 있어, 가수분해에서도 산 또는 알칼리 등을 첨가할 필요가 없다. 이 효소의 최적반응 온도는 30-40°C이다.

### 기질

본 연구에서 기질로 사용한 물고기 기름은 노르웨이 LiPRO AS社의 제품이다. 정어리와 베렌이류의 해양어류를 잘게 썰어 삶은 후 압착하여 원료유를 얻는다. 그리고 탈산, 진공건조, 냉각여과, 탈취 등의 공정을 거쳐 최종 제품을 얻게 된다. 이런 공정을 거쳐 얻은 최종제품은 EPA를 약 17%, DHA를 약 11%를 함유하고 있다.

### 실험방법

*Candida cylindracea* 유래의 리파제를 사용하여 물고기 기름을 가수분해 시켰다. 기름과 물의 부피비를 1:1로 하고 반응온도는 38°C, 교반속도는 250 rpm으로 고정하여 가수분해 반응을 진행시켰다. 반응 시간별로 시료를 취하여 100°C 끓는 물에서 효소의 반응을 정지시킨 후 일부는 생성혼합물의 트리글리세라이드, 디글리세라이드, 모노글리세라이드 및 유리지방산의 조성을 확인하기 위하여 Thin Layer Chromatography (TLC) 분석에 사용하였고, 나머지 시료는 탈산공정을 거친 후 미반응 트리글리세라이드, 디글리세라이드 및 모노글리세라이드의 지방산 구성성분을 확

인하기 위하여 가스 크로마토그래피 분석에 사용하였다.

한국공업규격(12)과 Yukihisa Tanaka의 방법(1)을 변형시켜 탈산공정을 수행하였다. 반응 시간별로 2 mL의 시료를 취하여 에펜도르프 투브에 주입한 후 100°C 끓은 물에 10분간 가열함으로써 효소의 활성을 정지시켰다. 3,600 rpm에서 15분간 원심분리하여 상을 분리한 후, 기름총에서 0.6 mL의 시료를 취하여 시험관에 주입한 후 아세톤과 혼산을 각각 3 mL씩 첨가하고 교반시켜 용해시켰다. 유리지방산을 제거하기 위하여 용해된 시료를 0.2 N NaOH 수용액 100 mL에 가한 후, 약 5분 동안 교반시키고 2시간 동안 정치시켰다. 상분리가 일어나면 하층은 제거하고 상층은 중류수로 여러 번 세척하여 기름총 내의 잔여 NaOH를 제거시켰다. 유리지방산이 제거된 상층을 분리하여 용매를 증발시켜 가수분해 되지 않은 트리글리세라이드, 디글리세라이드 및 모노글리세라이드의 혼합된 전조시료를 얻었다.

글리세라이드 혼합물의 에스테르화 반응은 Guy Lepage의 방법(13)을 변형시켜 사용하였다. 탈산공정을 거친 시료 400 mg에 아세틸클로라이드-메탄을 용액 3 mL을 첨가한 후 질소 분위기하에서 100°C로 1시간 중탕 가열하여 에스테르화반응을 시켰다. 중탕가열 후 상온에서 냉각하고 혼산 6 mL을 첨가하여 60초 동안 교반한다. 여기에 중류수 3 mL을 첨가하고 30초 동안 교반하면 용액은 두 상으로 분리된다. 아래 상은 아세틸클로라이드와 물 및 수용성 물질의 혼합상이고 윗상은 메틸에스터 지방산이 용해되어 있는 혼산용액이다. 이 혼산용액을 분리하여 가스 크로마토그래피의 분석시료로 사용하였다.

### 분석방법

지방산 조성의 분석은 가스 크로마토그래피와 박층 크로마토그래피를 이용하였다. Hewlette-Packard社의 HP 6890 series GC system을 사용하여 가수분해 되지 않은 트리글리세라이드, 디글리세라이드 및 모노글리세라이드 혼합시료 내의 지방산 조성을 분석하였다. 이때 사용한 column은 HP 19091J-413이며, detector는 FID를 사용하였다. 오븐의 온도는 150°C (2 min) + 7°C/min + 265°C (2 min)이었으며, detector의 온도는 300°C이었다.

반응 시간별로 채취한 시료를 100°C 끓는 물에서 효소의 반응을 정지시킨 후, 3,600 rpm에서 15분간 원심분리하고, 기름총에서 100 μL의 시료를 취하여 10 mL의 클로로포름에 녹인 후, 박층 크로마토그래피 (CHROMAROD-SIII)에 시료 1 μL를 적절하여 100 μL의 높이로 전개하였다. 전개용매로는 부피비가 70: 30: 2인 벤젠, 클로로포름, 아세트산의 혼합물을 사용하였다. TLC-FID의 분석에서 수소유속은 160 mL/min, 공기 유속은 2.0 L/min으로 하였으며, scan speed는 30초로 하였다. 결과처리는 일본 IATRON社의 IATROCORDER TC-21을 사용하였으며, Attenuation chart speed는 10.0 cm/min으로 하였다.

### 결과 및 고찰

#### 지방산 농도와 가수분해 시간 사이의 함수관계

물고기 기름을 구성하고 있는 지방산의 탄소수, 이중결

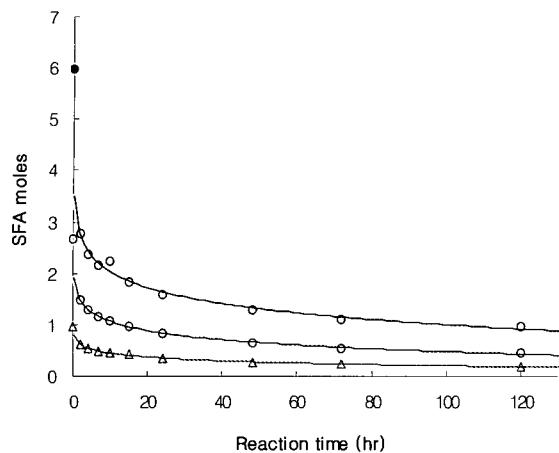


Figure 1. The moles of saturated fatty acids in the glycerides vs. hydrolysis time. ○: C14:0, ●: C16:0, △: C18:0.

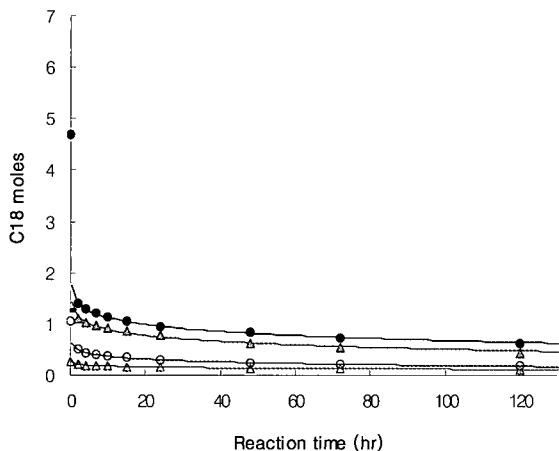


Figure 3. The moles of C18 fatty acids in the glycerides vs. hydrolysis time. ○: C18:1(n-7), ●: C18:1(n-9), △: C18:3, ▲: C18:4.

합수, 이중결합이 시작되는 위치 등이 리파제의 가수분해 특성에 영향을 미친다고 발표되어 있다(1-3, 9). 본 연구에서는 아실체인 특이성을 지니고 있는 Lipase-OF 360,000이 지질을 구성하고 있는 지방산의 가수분해에 미치는 특성을 정량적으로 규명하기 위하여, 15 종류의 지방산에 대한 mol수와 가수분해 시간 사이의 함수관계를 Fig. 1 내지 4에 도시하였다. 또한 이 함수관계를 수식화하기 위하여, 시간의 다항식, 지수함수식, 대수함수식으로 각 지방산의 mol수를 표현하여 보았다. 각 함수식의 계수는 최소자승법을 사용하여 구하였다. 그 다음 어떤 함수식이 실측치를 가장 잘 대변하고 있는지를 평가하기 위하여, 식(1)로 정의되는 평균오차 분석을 수행하였다.

$$\text{평균오차}(\%) = \frac{\sum_{i=1}^N \left[ \frac{\text{실측치} - \text{계산치}}{\text{실측치}} \right]_i \times 100}{N} (\%) \quad (1)$$

위 식에서 N은 가수분해 시간에 따라 각 지방산의 mol수를 측정한 횟수를 나타내고 있다.

이 오차분석에 의하면 식(2)로 표현되는 대수함수식의 계산값과 측정치 사이의 평균오차가 가장 작게 나타났다.

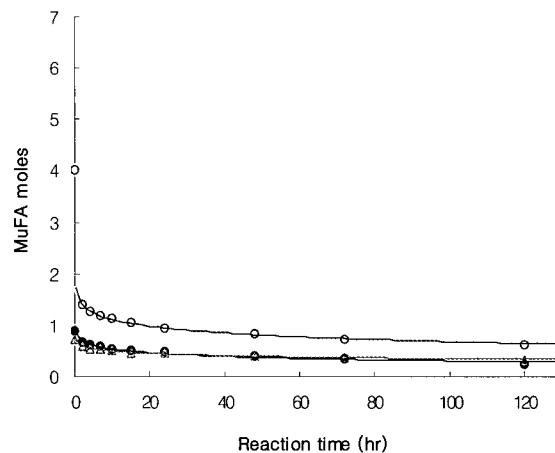


Figure 2. The moles of mono-unsaturated fatty acids in the glycerides vs. hydrolysis time. ○: C16:1, ●: C20:1, △: C22:1.

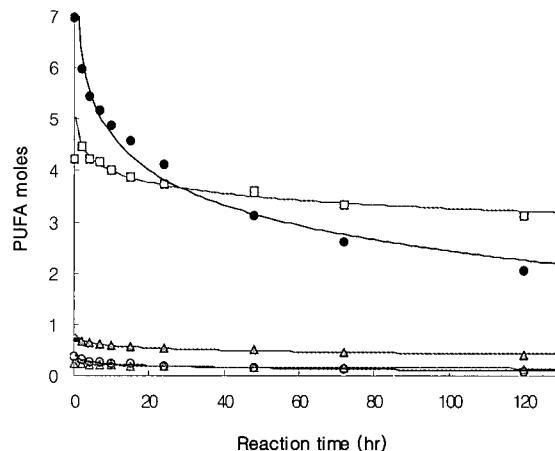


Figure 4. The moles of polyunsaturated fatty acids in the glycerides vs. hydrolysis time. ○: C20:4, ●: C20:5, △: C21:5, ▲: C22:5, □: C22:6.

Table 1. The mathematical models between the number of mole and hydrolysis time, and the average errors of the calculated values of the model on the basis of the measured values

Fatty acid	Function of mole and time	Average error (%)
C14:0	$S = -0.2550 \ln(t) + 1.6547$	2.482
C16:0	$S = -0.4481 \ln(t) + 3.0699$	3.375
C18:0	$S = -0.1057 \ln(t) + 0.6942$	2.714
C16:1	$S = -0.1863 \ln(t) + 1.5394$	1.932
C18:1 (n-7)	$S = -0.0777 \ln(t) + 0.5493$	1.508
C18:1 (n-9)	$S = -0.1910 \ln(t) + 1.5581$	1.257
C20:1	$S = -0.0981 \ln(t) + 0.7608$	5.159
C22:1	$S = -0.0630 \ln(t) + 0.6427$	2.006
C18:3	$S = -0.0256 \ln(t) + 0.2393$	2.218
C18:4	$S = -0.1651 \ln(t) + 1.2690$	3.980
C20:4	$S = -0.0535 \ln(t) + 0.3594$	4.223
C20:5	$S = -0.9801 \ln(t) + 6.9499$	4.932
C21:5	$S = -0.0235 \ln(t) + 0.2602$	2.188
C22:5	$S = -0.0667 \ln(t) + 0.7420$	2.307
C22:6	$S = -0.3165 \ln(t) + 4.7266$	1.326

$$S_i = -\alpha_i \ln(t) + \beta_i \quad (2)$$

위 식에서  $S_i$ 는 글리세라이드 혼합물을 구성하고 있는 i-지

방산의 mol수를 나타내며,  $\alpha_i$ 와  $\beta_i$ 는  $i$ -지방산에 대한 상수,  $t$ 는 가수분해 시간을 의미한다.

Table 2. The equations of hydrolysis rate of 15 fatty acids included in the fish oil

Fatty acid	Equation of hydrolysis rate
C14:0	$v = 0.00038761 e^{\frac{-S}{0.255}}$
C16:0	$v = 0.00047430 e^{\frac{-S}{0.448}}$
C18:0	$v = 0.00014852 e^{\frac{-S}{0.106}}$
C16:1	$v = 0.00004804 e^{\frac{-S}{0.186}}$
C18:1 (n-7)	$v = 0.00006610 e^{\frac{-S}{0.078}}$
C18:1 (n-9)	$v = 0.00005473 e^{\frac{-S}{0.191}}$
C20:1	$v = 0.00004203 e^{\frac{-S}{0.098}}$
C22:1	$v = 0.00000234 e^{\frac{-S}{0.063}}$
C18:3	$v = 0.00000223 e^{\frac{-S}{0.026}}$
C18:4	$v = 0.00007580 e^{\frac{-S}{0.165}}$
C20:4	$v = 0.00006469 e^{\frac{-S}{0.054}}$
C20:5	$v = 0.00081599 e^{\frac{-S}{0.980}}$
C21:5	$v = 0.00000037 e^{\frac{-S}{0.024}}$
C22:5	$v = 0.00000098 e^{\frac{-S}{0.067}}$
C22:6	$v = 0.00000010 e^{\frac{-S}{0.317}}$

물고기 기름 1,000 g을 기준으로 했을 때, 각 지방산별 식(2)의 함수와 식(1)의 평균오차를 Table 1에 제시하였다. 이 결과에 의하면, 식(2)의 계산값이 평균오차 5% 이내의 범위에서 실측치를 대변하고 있음을 알 수 있다. Fig. 1에서 4까지의 실선은 글리세라이드 혼합물을 구성하고 있는 각 지방산의 mol수와 시간과의 함수관계식 (2)를 나타내고 있다. 이 결과로부터 물고기 기름을 구성하고 있는 15 종류의 지방산에 대한 mol수와 가수분해 시간 사이의 함수관계가 모두 식(2)의 함수관계식으로 나타내어짐을 알 수 있다.

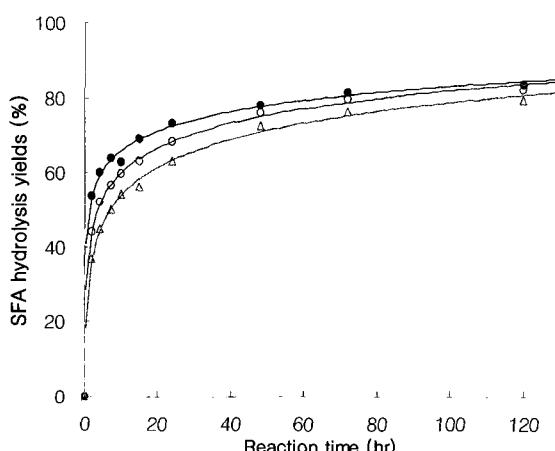


Figure 5. Hydrolysis yields of saturated fatty acid. ○: C14:0, ●: C16:0, △: C18:0.

### 지방산의 가수분해 반응속도식

도출된 식(2)의 함수관계식으로부터 각 지방산의 가수분해 반응속도를 시간 및 농도의 함수로 유도하면 다음과 같다.

$$v_i = -\frac{dS_i}{dt} = \frac{\alpha_i}{t} \quad (3)$$

식(2)로부터  $t$ 를  $S_i$ 의 함수로 유도하여 식(3)에 대입하고 정리하면, 식(4)와 같이  $i$ -지방산의 가수분해 속도를  $S_i$ 의 함수로 나타낼 수 있다.

$$\begin{aligned} v_i &= -\frac{\alpha_i}{\exp\left(\frac{\beta_i - S_i}{\alpha_i}\right)} = \frac{\alpha_i}{\exp\left(-\frac{\beta_i}{\alpha_i}\right)\exp\left(-\frac{S_i}{\alpha_i}\right)} \\ &= \left[ \frac{\alpha_i}{\exp\left(\frac{\beta_i}{\alpha_i}\right)} \right] \exp\left(\frac{S_i}{\alpha_i}\right) = \gamma_i \exp\left(\frac{S_i}{\alpha_i}\right) \end{aligned} \quad (4)$$

Table 1의 함수관계식을 식(4)에 적용하여 각 지방산에 대한 가수분해 속도식을 유도하면 Table 2와 같다. 농도, 즉 mol수가 영에 접근할 경우, 식(4)를 Tayler 맥급수로 전개하면 다음식과 같다.

$$v_i = \gamma_i \left[ e^{(0)} + \frac{1}{1!} - \frac{e^{(0)}}{1!} S_i + \frac{1}{2!} - \frac{e^{(0)}}{2!} S_i^2 + \dots \right] \quad (5)$$

위 식에서  $\gamma_i$ 의 값과  $S_i$ 의 값이 작기 때문에  $S_i$ 의 1차항에 비하여 나머지 항의 값은 작다. 따라서  $S_i$ 의 1차항을 제외한 나머지 항을 무시하면 식(5)의 반응속도는  $S_i$ 의 1차 함수로 표현되어 지방산의 가수분해 반응은 1차 반응이 된다. 이러한 특성은 Michaelis-Menten 식의 특성과 유사하다 (10).

### 각 지방산의 가수분해율과 시간 사이의 함수관계

식(2)로부터 각 지방산의 시간에 따른 가수분해율에 대한 계산식을 유도하면 다음과 같다.

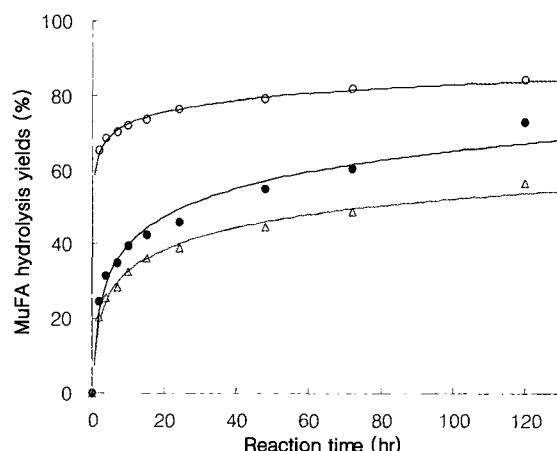


Figure 6. Hydrolysis yields of fatty acids with one double bond. ○: C16:1, ●: C20:1, △: C22:1.

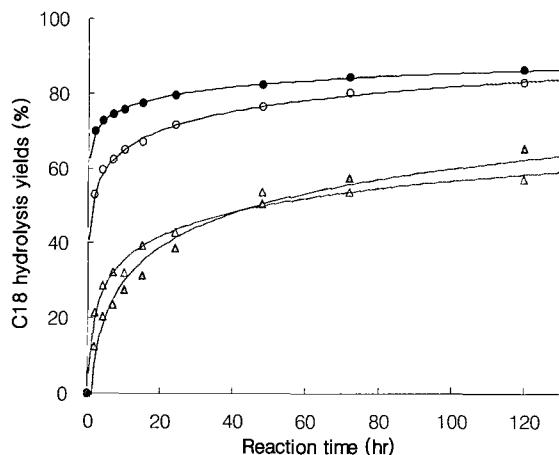


Figure 7. Hydrolysis yields of C18 fatty acids with different double bonds. ○: C18:1(n-7), ●: C18:1(n-9), △: C18:3, ▲: C18:4.

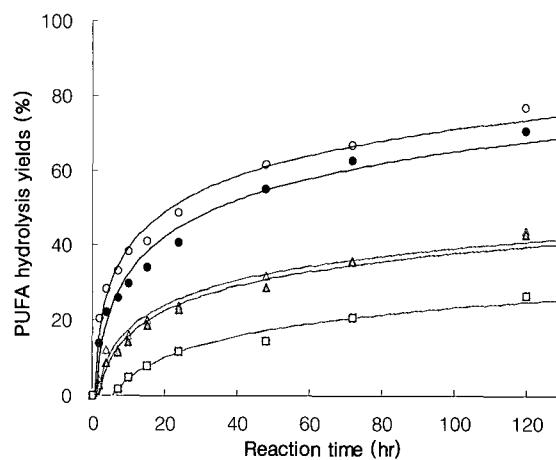


Figure 8. Hydrolysis yields of polyunsaturated fatty acids having equal to or more than 20 carbons. ○: C20:4, ●: C20:5, △: C21:5, ▲: C22:5, □: C22:6.

$$\text{가수분해율} = \frac{S_{i,0} - S_{i,t}}{S_{i,0}} \times 100(\%) \\ = \left( \frac{\alpha_i}{S_{i,0}} \ln(t) + 1 - \frac{\beta_i}{S_{i,0}} \right) \times 100 \quad (6)$$

위 식에서  $S_{i,0}$ 는 반응시간 0에서 i-지방산의 mol수를,  $S_{i,t}$ 는 반응시간 t에서 i-지방산의 mol수를 의미한다. 물고기 기름을 구성하고 있는 15종류의 지방산에 대한 식(6)의 합수값과 실측치를 Fig. 5에서 8에 도시하였다. 실선은 식(6)에 의한 계산값을 나타내며, 기호는 실측치를 나타내고 있다. 또한 식(6)에 의한 계산값이 실측치를 어느 정도 대변하는지를 평가하기 위하여, 식(1)로 정의되는 평균오차를 분석하였다. 이 결과 15종류의 지방산 모두가 평균오차 5% 이내의 범위에 분포되고 있음을 확인할 수 있었다.

식(6)에 의하여 물고기 기름을 구성하고 있는 각 지방산의 50%가 분해되는데 소요되는 시간을 구하여 Fig. 9에 도시하였다. 지방산을 구성하는 탄소수가 18개 이하이며 이중결합수가 1개 이하인 지방산인 경우 초기 mol수의 50%가 가수분해 되는데 소요되는 시간이 10시간 미만이었다. 반면, 탄소수가 20개 이상이거나 이중결합수가 3개 이상인 지방산의 50%가 가수분해되는 시간은 20시간 이상, 80시간 이하의 범위 내에 분포되어 있었다. 탄소수가 21개 이상이면서 이중결합수가 5개 이상인 지방산의 50%가 가수분해 되는 시간은 300시간을 초과하였다.

특히 탄소수가 22이며 이중결합수가 6개인 C22:6의 DHA는 초기 mol수의 50%가 가수분해 되는데 2,000시간 이상 소요됨을 알 수 있다.

#### 가수분해 시간에 따른 각 지방산의 가수분해율

가수분해 48시간에서 물고기 기름을 구성하고 있는 15종류 지방산의 가수분해율을 계산하여 Fig. 10에 도시하였다. 이 결과에 의하면, 가수분해율이 70% 이상인 지방산 집단에는 탄소수가 적고 이중결합수가 1개 이하인 C14:0, C16:0, C18:0, C16:1, C18:1(n-7) 및 C18:1(n-9)이 있으며, 가수분해율이 40% 내지 60% 이내에 분포되어 있는 지방산

에는 C20:1, C22:1, C18:3, C18:4, C20:4, 및 C20:5가 있으며, 가수분해율이 30% 내외인 지방산에는 C21:5와 C22:5가 있으며, 가수분해율이 20% 이하인 지방산은 C22:6이다. 이 결과는 본 연구에서 사용한 효소가 아실체인 특이성이라는 효소의 특이성에 부합되는 결과로 해석할 수 있다(1, 3).

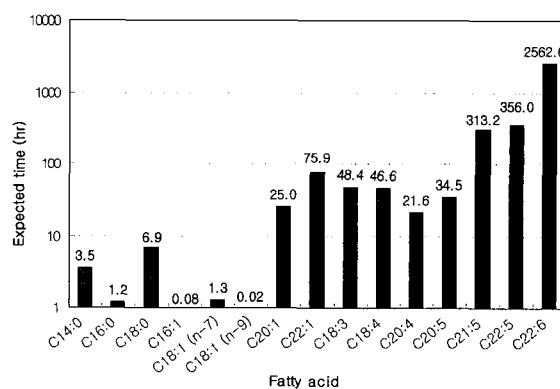


Figure 9. The expected time for the 50% hydrolysis yield of each fatty acid.

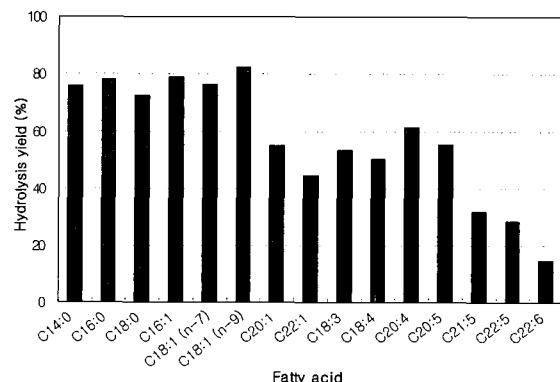


Figure 10. The hydrolysis yield of each fatty acid at 48 hr of hydrolysis.

## 요 약

물고기 기름을 구성하고 있는 15 종류 지방산에 대한 mol 수와 가수분해 시간 사이의 함수관계를 대수함수식,  $S_i = -\alpha_i \ln(t) + \beta_i$ 로 나타내었다. 동일 가수분해 시간에서 각 지방산에 대한 대수함수식의  $S_i$  값과 실측치 사이의 오차가 15 종류 지방산 모두에 대하여 5% 이내에 분포되었다.

각 지방산의 mol 수  $S_i$ 와 가수분해 시간 사이의 대수함수식으로부터 각 지방산에 대한 가수분해 반응속도를 지방산 mol 수의 지수함수 관계식,  $v_i = \gamma_i \exp\left(\frac{S_i}{\alpha_i}\right)$ 로 유도하였다. 또한 유도된  $S_i$ 와 t 사이의 함수관계식으로부터 물고기 기름을 구성하는 15 종류 지방산 각각에 대한 가수분해율을 분석하였다. 가수분해 시간 48시간에서 가수분해율이 70% 이상인 지방산은 C14:0, C16:0, C18:0, C16:1, C18:1(n-7) 및 C18:1(n-9)이였으며, 가수분해율이 40% 내지 60% 사이에 분포되어 있는 지방산은 C20:1, C22:1, C18:3, C18:4, C20:4 및 C20:5이였으며, 가수분해율이 30% 내외인 지방산은 C21:5와 C22:5이였으며, 20% 이하인 지방산은 C22:6이였다.

## 감 사

본 연구는 해양수산부의 수산특정연구개발사업 (과제번호: 20020075)에 의해 수행되었으며 연구비 지원에 감사드립니다.

## REFERENCES

- Yukihisa Tanaka, Jiro Hinano, and Tadashi Funda (1993), Concentration of Docosahexaenoic Acid in Glyceride by Hydrolysis of Fish Oil with *Candida cylindracea* Lipase, *J. Am. Oil Chem. Soc.* **36**, 5797-5794.
- Shimada, Y., K. Marugama, S. Okazaki, M. Nakamura, A. Sugihara, and Y. Tomina (1994), Enrichment of Polyunsaturated Fatty Acids with *Geotrichum candidum* Lipase, *J. Am. Oil Chem. Soc.* **71**, 951-954.
- Jin, Y. S. and B. K. Hur (1998), Process Development of Concentration of n-3 PuFAs from Fish Oil by means of Lipase, *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* **13**, 90-95.
- Hur, B. K., D. J. Woo and C. B. Kim (1999), Hydrolysis Mechanisms of Fish Oil by Lipolase-100T, *J. Microbiol. Biotechnol.*, **9**(5), 624-630.
- Okumura, S., M. Zwai, and Y. Tsujisaka (1980), Purification and properties of Partial Glyceride Hydrolase of *Penicillium cyclopium* M1, *J. Biochel.* **87**, 205-211.
- Boswinkel, G., J. T. P. Derken, K. van't Riet, and F. P. Cuperusa (1996), Kinetics of Acyl Migration in Monoglycerides and Dependence on Acyl Chain Length, *J. Am. Oil Chem. Soc.* **73**(6), 707-711.
- Yadwad, V. B., O. P. Ward, and L. C. Noronha (1991), Application of Lipase to Concentrate the Docosahexaenoic Acid(DHA) Fration of Fish Oil, *Biotechnol. Bioeng.* **38**, 956-959.
- Li, Z. Y. and O. P. Ward (1993), Enzyme Catalyzed Production of Vegetable Oils Containing Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acid, *Biotechnol. Lett.* **15**, 185-188.
- Mukherjee, K. D., I. Kiewitt, and M. J. Hills (1993), Substrate Specificities of Lipases in View of Kinetic Resolution of Unsaturated Fatty Acids, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **40**, 489-493.
- Bailey, J. E. and David, F. O. (1986), Biochemical Engineering Fundamentals, 2nd ed. McGraw-Hill, 100.
- 서정윤 (1988), 제4장 복수기질반응, 75-99, 민음사.
- 한국공업규격 사료유지의 탈산방법 (1985), KSM 2731.
- Lepage, G. and C. C. Roy (1984), Improved Recovery of Fatty Acid through Direct Transesterification without Prior Extraction or Purification, *J. Lipid Res.* **25**, 1391-1396.