

초임계 이산화탄소를 이용하여 추출된 멸치 오일의 지방산 조성 및 산화 특성

이승미, 윤준호, 전병수*

부경대학교 식품공학과
608-737 부산시 남구 대연 3동 595-1

(2011년 6월 17일 접수; 2011년 8월 5일 수정본 접수; 2011년 8월 8일 채택)

Fatty Acid Composition and Oxidative Properties of Anchovy Oil Extracted by Supercritical Carbon Dioxide

Seung-Mi Lee, Jun-Ho Yun, and Byung-Soo Chun*

Faculty of Food Science and Biotechnology, Pukyong National University, 595-1 Deayeon-3 dong, Nam-gu, Busan 608-737, Korea

(Received for review June 17, 2011; Revision received August 5, 2011; Accepted August 8, 2011)

요 약

초임계 이산화탄소 및 유기용매를 이용하여 동결 건조된 멸치 시료로부터 오일을 추출하였으며, 시료는 700 μm 로 균질화시켜 사용하였다. 다양한 압력 (15~25 MPa) 및 온도 (40~60 $^{\circ}\text{C}$) 조건에서 실험을 수행하였으며, 22 g/min의 일정한 유량을 추출기로 유입시켰다. 추출된 오일의 지방산 조성을 확인하기 위하여 가스 크로마토그래피를 이용하여 분석한 결과 추출된 멸치 오일에는 myristic acid, palmitic acid, stearic acid, palmitoleic acid, eicosapentaenoic acid (EPA), 그리고 docosahexaenoic acid (DHA)가 주요 지방산으로 확인되었다. 추출된 오일 내 EPA 및 DHA와 같은 고도불포화지방산(PUFAs) 함량을 비교하였을 때, 유기용매 추출 오일보다 초임계 이산화탄소를 이용하여 추출한 오일의 고도 불포화 지방산 함량이 더 높았다. 산화도 비교 실험인 산가 및 과산화물가 값을 측정된 결과, 유기용매 추출 오일보다 초임계 이산화탄소를 이용한 추출 오일의 산화도가 유의적으로 낮았으며, 산화되는 속도 또한 느리게 진행되는 것을 확인할 수 있었다.

주제어 : 멸치, 초임계 이산화탄소, 고도불포화지방산, 산가, 과산화물가

Abstract : Anchovy oil was extracted using supercritical carbon dioxide (SCO_2) and organic solvents. Extraction was carried out at temperature range from 40 to 60 $^{\circ}\text{C}$, and pressure range from 15 to 25 MPa. The flow rate of CO_2 (22 gmin^{-1}) was constant entire the extraction period of 1.5 h. The fatty acid composition of anchovy oil was analyzed by gas chromatography (GC). The main fatty acids of anchovy oil were myristic acid, palmitic acid, stearic acid, palmitoleic acid, EPA (eicosapentaenoic acid), and DHA (docosahexaenoic acid). In addition, the oil obtained by SCO_2 extraction contained a higher percentage of polyunsaturated fatty acids especially EPA and DHA comparing to the organic solvent extracted oil. The oxidative stability of oils extracted from Anchovy by SCO_2 extraction was compared to those extracted by organic solvents. Results showed that the storage periods of oils obtained by SCO_2 extraction were longer than those of organic solvents extraction.

Keywords : Anchovy, Supercritical carbon dioxide, Polyunsaturated fatty acids, Oxidative stability

1. 서 론

멸치는 국내 수산물 어획량 중 높은 비율을 차지하고 있는 어류로써 아미노산과 펩타이드, 기능성 지질 및 유기물이 함유되어 있다[1]. 멸치는 해양 식량 자원으로 기능성물질과 아미노산의 함량이 높으며[2], 멸치를 포함한 수산물은 인간의 식이에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있으며, 특히 고도 불포화지방산(PUFAs)을 제공해주는 주요 자원으로써 DHA/

EPA가 다량 함유되어 있다. 이러한 지방산은 관상 심장 질환의 위험을 줄여준다고 알려져 있으며, 또한 낮은 혈압수치와 동맥경화 예방에도 도움이 된다[3,4]. 그와 함께 멸치에 함유된 성분 등은 당뇨병의 증상인 염증을 완화할 수 있다고 발표된 바 있으며[5-7], 뇌의 두뇌 발달에도 큰 영향을 미치고 있다[8]. 이외에도 멸치는 국민 건강 증진에 많은 도움을 주는 식량자원으로 널리 이용되고 있다[9,10].

지금까지 이런 수산물의 추출에는 유기용매, 증류법을 이용한 추출이 많이 이용되어 왔으나, 이는 잔존용매의 위험성이 있고 열을 가하는 공정이 추가되므로 성분 변성 등의 위험

* To whom correspondence should be addressed.
E-mail: bschun@pknu.ac.kr

뿐만 아니라 산화로 인한 문제점이 있어 경쟁력의 한계성을 나타내고 있다. 반면 초임계 유체 추출법은 유체의 임계점 근방 또는 그 이상의 온도와 압력 하에 유체의 특이적 성질을 이용하여 유용물질을 추출하는 방법으로 비교적 낮은 온도(40~60 °C)에서 수행되므로 열에 민감한 천연물질의 분리·정제에 많이 이용되고 있으며, 초임계 유체 추출법은 유기용매 사용으로 인해 야기되는 여러 가지 환경문제를 해결하는데 적합한 추출법이다[11,12]. 또한 초임계 유체 추출은 soxhlet, sonication 등의 다른 추출기술에 비해 보다 효과적이며 이에 상응하는 결과를 보이고 있다[13-21].

초임계 유체로 사용되는 이산화탄소는 다른 유체에 비해 임계점이 낮고, 무색, 불연성, 무독성 및 용질과의 비 반응성과 같은 이점으로 인해 많이 이용되고 있으며, 또한 기존의 용매추출 법에 비하여 추출 시간이 짧고, 샘플 처리량이 우수하며 높은 선택성을 지닌다[22-23]. 초임계 이산화탄소를 이용한 어유의 추출에 관련된 연구는 계속 진행되어 왔으며, 이를 이용하여 추출된 w-3 고도 불포화 지방산 함유 어유 화합물에 대한 용해도 측정 연구 또한 많이 발표되었다[24-31].

따라서 본 논문에서는 청정 기술인 초임계 이산화탄소 공정을 활용하여 이용가치가 높은 수산자원인 멸치로부터 오일을 추출하며, 기능성이 우수한 고도불포화지방산 함유량을 비교/분석한다. 또한 유기용매 추출 오일과의 산화도 비교실험을 수행함으로써, 상업적 활용가능성에 대하여 연구하였다.

2. 실험

2.1. 재료

본 실험에 사용된 멸치 시료는 기장 동광상회에서 공급받은 것으로서, 기장 해안에서 당해 어획된 것을 사용하였다. 시료는 동결건조기(PVTFD, 500R)에 의해 72시간 동안 동결 건조하였으며 시료는 700 μm로 균질화 되어 -20 °C의 냉동고

에 저장되어 사용하였다. 초임계 이산화탄소 추출에 사용되었던 이산화탄소는 순도 99.9%의 이산화탄소를 사용하였으며, 분석 및 보조용매로 사용된 모든 시약은 Sigma Co.에서 공급받은 특급시약을 사용하였다.

2.2. 초임계 이산화탄소를 이용한 오일 추출

추출 오일의 최적 수율 조건 설정을 위해 온도(40~60 °C) 및 압력(15~25 MPa) 조건을 변화시키며 추출하였다. 추출을 위하여 사용되는 초임계 이산화탄소 추출 장치의 공정도는 Figure 1에 나타내었다. 실험 전 시료 30 g을 추출기에 충전하고, 추출 용매인 이산화탄소를 실린더로부터 냉각기(-20 °C)로 주입하여 액화시킨다. 그 후 고압펌프를 이용하여 시스템 내 설정 압력까지 가압하고, 추출기에 일정한 유량으로 유입시킨다. 추출기에 유입되기 전 추출용매로 작용하는 이산화탄소는 설정된 추출온도에 따라 항온조에 의해 예열된 후 유입되며, 추출기 내의 온도는 열전지에 의해 감지된다. 초임계 이산화탄소는 추출기 내의 시료로부터 정유성분을 추출하여 대기압 상태로 분리조 내에 유입되어 용제와 용매가 쉽게 분리된다. 주 용매인 이산화탄소의 유량은 22 g/min의 유량으로 주입하였고 건식 가스계량기에 의해 양을 측정한다 뒤 이산화탄소를 배출하였다.

2.3. 유기용매를 이용한 오일 추출

멸치의 지질을 추출하기 위하여 soxhlet 추출을 수행하였다. 동결 건조된 시료 3 g을 soxhlet tube안에 채운 다음 soxhlet 관에 넣고 용매로는 ethanol, hexane, ether 순으로 18시간 동안 충분히 추출을 하였다.

2.4. 초임계 이산화탄소 오일 추출 전·후의 일반성분 분석

동결건조 및 초임계 이산화탄소 추출 후 회수된 시료 각각

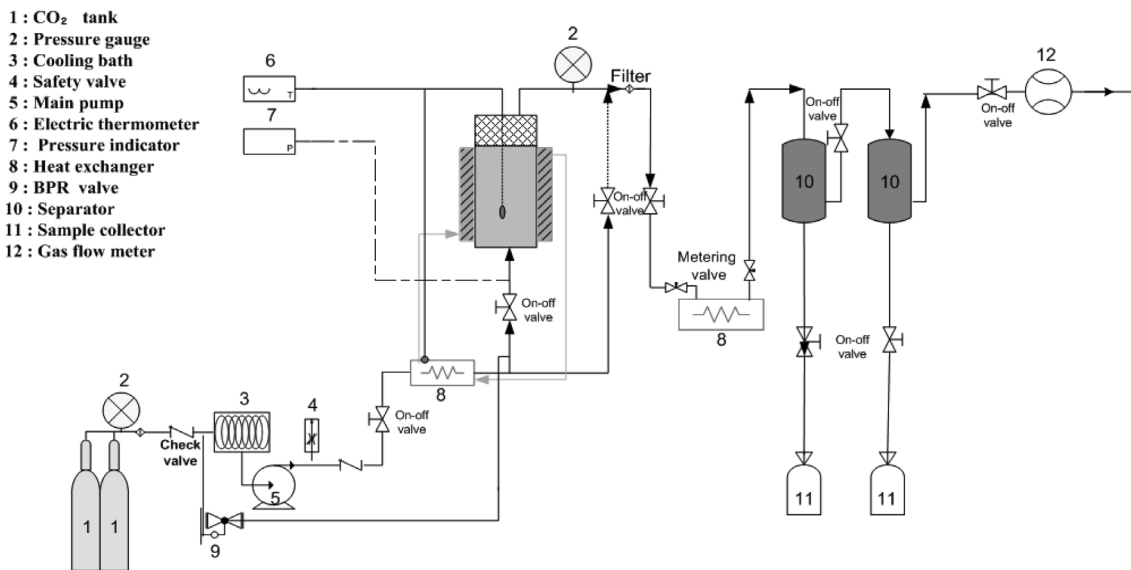


Figure 1. A schematic diagram of SCO₂ extraction process.

의 일반성분을 비교하였다. 일반성분의 함량은 AOAC법에 따라 수분은 상압가열건조법, 조단백은 semi-micro Kjeldahl 법, 조지방은 soxhlet법, 회분은 건식 회화법으로 측정하였으며 3번 측정하여 평균내었다.

2.5. 지방산 분석

시료는 AOAC법에 의해 0.2 g을 환류 냉각관이 장착된 둥근 플라스크에 칭량한 뒤 0.5 N NaOH/methanol을 6 mL 가하여 75 °C에서 20분간 중탕한다. 그 뒤에 BF₃/methanol (Fluka Co.) 7 mL를 가하여 잘 흔들어준 후 30분간 75 °C에서 중탕한다. 1 mL의 핵산을 가하여 2분 정도 방치한 후, 포화 NaCl용액 2 mL를 가하여 30초간 혼합하고 방치한 후 상층을 분리하여 여분의 물을 완전히 제거한 뒤 가스크로마토그래피(Hewlett Packard 6890II)로 분석하였다. 분석칼럼은 HP-INNOWax (50 m × 0.32 mm × 0.5 μm)이며, 검출기는 FID를 사용하였다.

2.6. 산가 및 과산화물가 측정

초임계 이산화탄소 추출 오일과 유기용매 추출 오일의 산가 및 과산화물가 측정은 AOAC 방법에 의하여 측정하였다. 각각의 추출오일은 실험기간 동안 약 37 °C의 shaking incubator (HANBAEK SCIENTIFIC HB-201SL)에서 저장하여 사용하였다. 실험기간은 3주 동안이었으며, 약 4회에 걸쳐 측정되었다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 초임계 이산화탄소 추출

본 연구에서 초임계 이산화탄소를 이용하여 오일을 추출한 조건은 압력(15~25 MPa) 및 온도(40~60 °C)에서 수행하였다. 추출 곡선은 Figure 2~4에 나타내었다. 추출조건인 온도 및 압력 변화에 따라 오일의 추출 수율에 차이가 나타났다. 15 MPa의 압력조건에 온도 별 추출 수율을 보았을 때 약 10~11 wt%의 수율을 확인하였으며, 20 MPa의 경우 15 MPa와 큰 차이 없는 10.3~10.8 wt%의 수율을 확인하였다. 하지만 25 MPa의 경우 14~14.8 wt%로 15 MPa의 압력조건의 추출 수율보다 약 4 wt% 더 높은 추출 보였으며, 가장 우수한 추출 수율을 나타내었다. 압력조건의 증가에 따라 추출오일의 양이 증가하게 되는데 이는 압력이 증가함과 동시에 밀도가 증가하여 나타난 결과이다. 초임계 이산화탄소를 이용하여 오일 추출 시 가장 높은 수율을 보이는 조건은 14.8 wt%를 나타낸 60 °C, 25 MPa, 조건이었으며, 가장 낮은 수율을 보인 조건은 10 wt%를 나타낸 40 °C, 15 MPa였다. Figure 2와 Figure 4를 비교하여 보면 40 °C, 15 MPa의 낮은 온도, 압력조건에서는 멀치시료 오일을 효율적으로 추출하지 못하였으나 60 °C, 25 MPa의 추출곡선은 시료 내 오일이 효율적으로 추출되었다는 것을 확인할 수 있다. 이는 약 4.8 wt%의 차이가 나는 추출 수율을 통해 확인할 수 있다. 일반적으로 온도가 일정한 상태에서 압력이 증가함에 따라 초임계 유체의 밀도가 증가하게 되며, 유체의 밀도가 증가함에 따라 용매력도 강력해진다

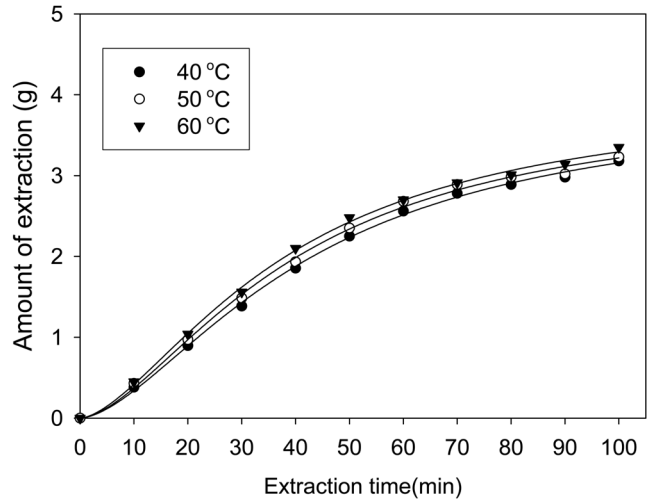


Figure 2. Anchovy oil extraction curves by SCO₂ at 15 MPa and CO₂ flow rate of 22 g/min.

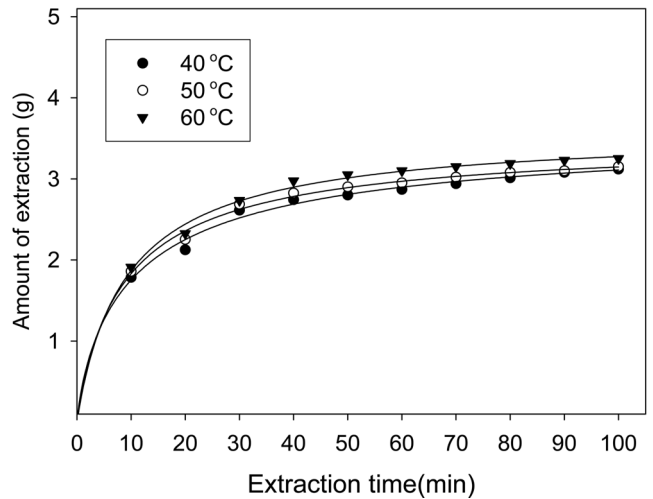


Figure 3. Anchovy oil extraction curves by SCO₂ at 20 MPa and CO₂ flow rate of 22 g/min.

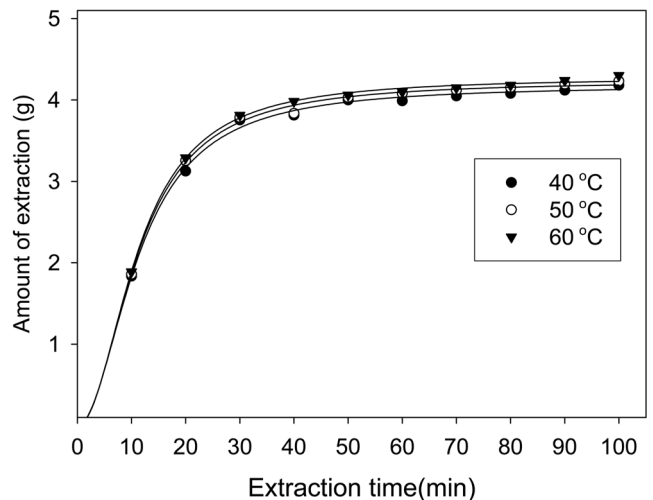


Figure 4. Anchovy oil extraction curves by SCO₂ at 25 MPa and CO₂ flow rate of 22 g/min.

[32,33]. 이러한 결과는 커피와 자숙멸치를 초임계 이산화탄소를 이용하여 추출한 결과에서도 나타났다. 밀도에 따른 오일 추출곡선은 Figure 5에 나타내었으며, 밀도가 증가함에 따라 추출 수율이 증가하는 것을 확인할 수 있으며 초임계 이산화탄소의 용매력 또한 높아지는 것을 확인할 수 있다.

3.2. 원료 일반성분 분석

동결건조 된 시료와 초임계 이산화탄소 추출 후 회수된 시료의 일반성분의 변화는 Table 1과 같다. 초임계 이산화탄소 추출에 의해 지질이 제거됨에 따라 초임계 이산화탄소 추출 후의 시료의 지질의 함량이 약 80% 제거되었다. 반면 단백질의 함량은 증가하였는데 이는 지질이 제거됨에 따라 상대적으로 증가된 것으로 볼 수 있다.

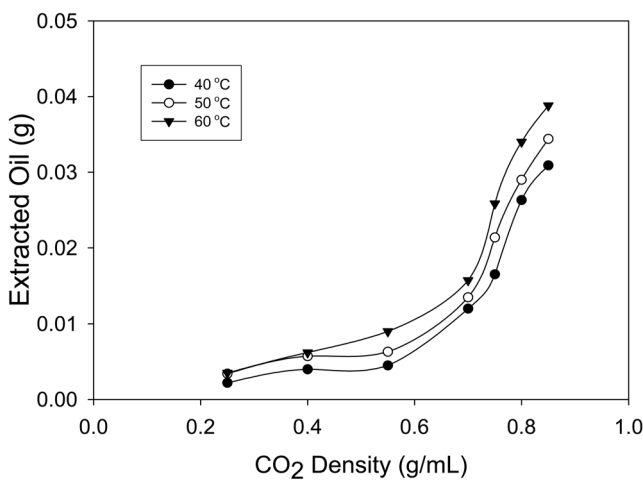


Figure 5. The effect of CO₂ density on oil extraction at different conditions.

Table 1. General composition of freeze dried anchovy before and after SCO₂ extraction (%)

Components	Raw material	After SCO ₂ extraction
Moisture	4.0	3.0
Crude protein	63.5	85.2
Crude fat	19.0	2.6
Ash	14.5	14.8

3.3. 추출된 오일의 지방산 조성 분석

추출오일의 지방산 조성은 Table 2에 나타내었다. 주요 지방산은 myristic acid, palmitic acid, stearic acid, palmitoleic acid, EPA, DHA가 있으며, 일반적으로 멸치로부터 추출된 오일은 포화지방산에 비해 불포화지방산 함량이 높은 것을 확인할 수 있었다[34]. 지방산 최적조건은 고도 불포화지방산 및 단일 불포화지방산의 함량이 가장 높은 조건인 40 °C, 20 MPa에서 추출된 오일로 가장 높은 함량(67.7%)을 나타내었다. DHA, EPA의 경우 20 MPa에서 평균 27.3%로 가장 높았으며 15 MPa에서 25.7%를 나타냈으며 가장 높은 추출 수율을 보여준 25 MPa압력조건 에서 약 24.9%의 가장 낮은 DHA, EPA 함량을 나타내었다. 포화지방산 함량의 경우 비슷한 수준을 나타내었는데 압력조건 20 MPa의 조건에서 평균 36.6%로 가장 낮은 함량을 나타냈으며 가장 낮은 추출조건 또한 40 °C, 20 MPa에서 가장 낮은 함량을 나타냈다.

본 논문에서 포화지방산은 초임계 이산화탄소를 이용하여 추출한 오일에서는 평균 37.8%로 유기용매에서 추출한 멸치 오일의 포화지방산 값인 49.6%보다 낮게 나타났다. 하지만 인체 내 중요한 지방산인 단일불포화지방산, 고도불포화지방산의 경우에는 약 31.8%와 30.5%로 높게 나타났다. 유기용매 추출오일에서도 단일불포화 지방산, 고도불포화지방산 함량

Table 2. Comparison of fatty acid composition of anchovy oil obtained by SCO₂ extraction and organic solvent extraction (%)

Fatty Acids	Supercritical Carbon Dioxide									Hexane
	15 MPa			20 MPa			25 MPa			
	40 °C	50 °C	60 °C	40 °C	50 °C	60 °C	40 °C	50 °C	60 °C	
C14:0	10.5	10.1	9.8	8.5	9.8	10.0	9.7	10.7	11.0	12.2
C16:0	25.5	20.3	20.5	17.8	21.0	23.3	23.2	19.4	21.9	26.3
C16:1	8.0	9.0	9.9	4.2	4.4	3.8	4.8	6.1	4.7	4.5
C18:0	4.9	4.1	3.8	3.5	3.8	3.4	4.8	3.4	3.8	8.0
C18:1	14.3	16.0	15.5	21.0	19.7	20.1	19.6	20.4	21.2	15.3
C18:2	2.9	2.2	2.0	1.5	1.4	1.2	1.1	3.3	1.4	3.5
C20:0	0.2	2.7	3.3	2.5	2.9	2.6	2.2	2.4	2.5	3.1
C20:1	3.7	3.3	3.2	4.3	4.4	4.3	3.9	4.6	3.9	3.8
C20:3	3.9	3.4	3.4	2.3	2.9	2.7	1.6	1.7	1.8	1.1
C20:5 (EPA)	8.9	10.0	10.3	11.1	10.0	10.2	9.2	8.9	9.7	9.9
C24:1	1.1	2.4	3.2	4.1	3.0	3.8	3.0	3.9	3.5	1.3
C22:6 (DHA)	16.0	16.7	15.2	19.2	16.9	14.6	17.0	15.3	14.6	11.0

은 높게 나타났으나 그 함량이 24.9%와 25.5%로 초임계 이산화탄소 추출 오일의 함량보다는 낮았다. 이러한 결과는 일반 멸치 지방산 조성에 의해 확인되었다[35]. 따라서 본 연구를 통하여 고도불포화 지방산의 함량이 많은 고품질의 추출오일을 얻을 수 있다.

주요 지방산 구성은 고도불포화지방산 및 단일불포화지방산 그리고 포화지방산 등이 있는데 체내에 포화지방산 섭취가 지속적으로 이루어지게 되면 혈액 내 포화지방산 함량은 증가되며 콜레스테롤 함량이 높아진다. 이 결과로 인해 고혈압 등의 심혈관 질환이 발생한다[36]. 이러한 결과로 초임계 이산화탄소를 이용하여 처리하는 공정을 해양산업에 응용하면 우수하게 적용될 수 있으며, 특히 EPA와 DHA 함량이 우수하고 포화지방산 함량이 줄어든 고품질 오일의 효과적인 추출 방법이라는 것을 알 수 있다[37,38].

3.4. 추출된 오일의 산가 및 과산화물가 비교

고도불포화 지방산 함량이 높은 어유는 저장조건 및 지방산 조성에 따라 가수분해 되어 변질되는 속도가 빠르고 산화되어 열에 불안정하다. 일반적으로 오일의 품질 검사에 사용되는 산가, 과산화물가를 측정하여 초임계 이산화탄소 추출 오일과 유기용매 추출오일의 산화도를 비교하였으며, 결과는 Figure 6~7에 나타내었다. 일반적으로 초임계 이산화탄소 추출 오일과 유기용매 추출오일 모두 산가와 과산화물가가 점차 증가하는 추세를 보였다. 산가는 오일 내 유리 지방산의 양을 의미하며 산가가 증가한다는 것은 산화가 진행 중이라는 것이다. 실험결과 유기용매를 이용하여 추출한 오일은 이미 저장 3일째에 급격한 산화가 진행 되었으며, 저장기간 동안 빠르게 증가하였다. 반면 초임계 이산화탄소를 이용하여 추출한 오일의 산가는 저장 7일째부터 증가하였으며, 저장기간 동안 유기용매 추출 오일의 값보다 유의적으로 낮은 산가를 보였다. 일반제품화 되어 생산되는 어유의 경우 약 1.0의 산가를 나타내며 추출되는 오일을 정제하는 공정이 필요하다고 사료된다. 과산화물가에 대한 결과값은 Figure 7에 나타내었다. 과산화물가 테스트는 과산화물 측정을 기본으로 하는 검사로서 지질 산화의 범위를 평가하는데 사용되는 가장 일반적인 시험이다. 그리고 과산화물가의 값은 산화의 초기 산화도를 나타내는 지표로 이용된다. 유기용매를 이용하여 추출한 멸치 오일의 과산화물가는 3일 뒤 증가하여 감소하는 경향을 보였으나 초임계 이산화탄소를 이용하여 추출한 오일은 약 10일 뒤 감소하는 추세를 보였다. 이는 과산화물가의 특징에 기인한 것으로 과산화물가는 산화가 진행될수록 증가하다가 carbonyl 화합물로 분해되어 결국에 가서는 감소되는 특징이 있다. 결과값은 초임계 이산화탄소를 이용하여 추출한 오일이 유기용매를 이용하여 추출한 오일보다 초기산화 지연에 효과가 있다는 것을 나타낸다. 이는 항산화제의 영향이라고 사료된다. 항산화물질은 초기산화지연에 효과가 있으며 초임계 이산화탄소를 이용하여 추출한 오일에 항산화물질이 더 많이 포함되어 있다는 것을 알 수 있다.

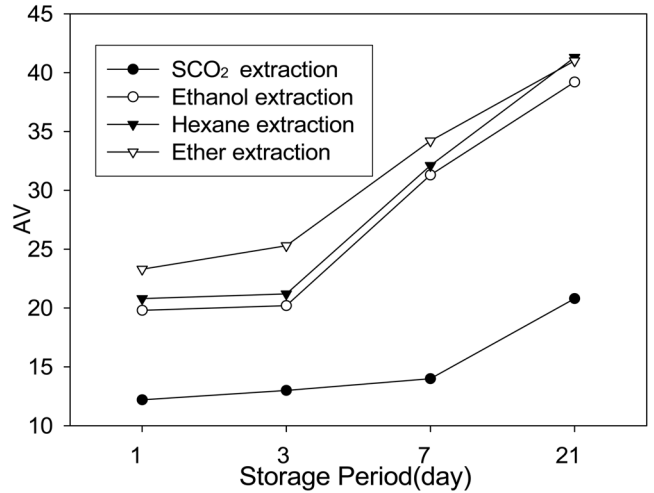


Figure 6. Comparison of acid values of anchovy oils obtained by SCO₂ extraction and organic solvent extraction.

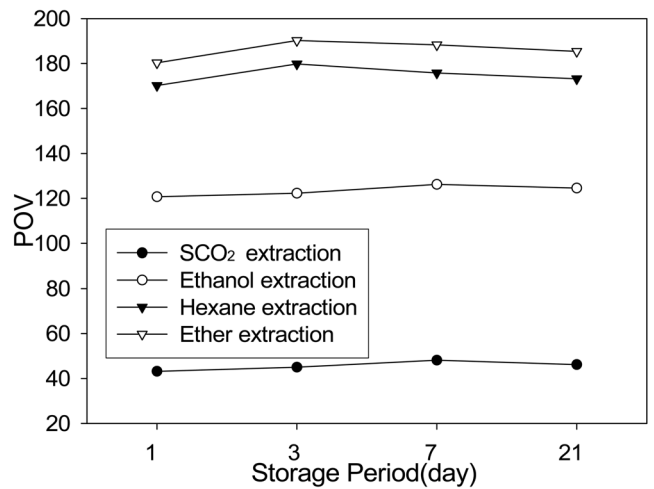


Figure 7. Comparison of peroxide values of anchovy oils obtained by SCO₂ extraction and organic solvent extraction.

4. 결론

본 연구에서는 수산물의 우수한 공급원인 멸치에 초임계 이산화탄소공정을 적용하여 다양한 압력(15~25 MPa) 및 온도 (40~60 °C) 조건에서 추출을 수행하였다. 그 결과 높은 온도 및 압력에서 추출 수율이 증가하였으며, 추출된 오일의 지방산 조성을 확인한 결과 DHA, EPA같은 고도불포화지방산 함량이 유기용매 추출 오일보다 높은 것을 확인할 수 있었다. 국내 수확량이 높은 멸치를 사용하여 기능성이 우수한 오일을 추출한다면 국내 해양 생물 산업에 도움이 될 것이라 예상된다. 한편, 추출오일의 산화도를 비교하였을 때 초임계 이산화탄소를 이용하여 추출한 오일이 품질 면에서 유기용매 추출 오일보다 우수하다는 것을 확인하였다. 초임계 이산화탄소를 이용하여 추출한 오일이 유기용매 추출 오일보다 산화도가 유의적으로 낮았으며, 산화되는 속도 또한 낮아서 저장성 또한 유기용매 추출 오일에 비하여 우수하다는 것을 알

수 있다. 따라서 초임계 이산화탄소를 이용하여 얻은 멸치오일은 고도불포화지방산의 좋은 공급원이 될 수 있으며 기능성물질이 다량 함유된 지질조성을 추출하는 공정은 초임계 이산화탄소 공정이 효과적으로 이용될 수 있다.

감사

본 연구는 국토해양부 해양생명공학사업의 해양바이오프로세스연구단 연구비 지원에 의해 수행되었습니다.

참고문헌

- Heu, M.-S, Kim, H.-R., and Pyeon, J.-H., "Comparison of Trypsin and Chymotrypsin from the Viscera of Anchovy, *Engraulis Japonica*. Comp.," *Biochem. Physiol. B*, **112**(3), 557-567 (1995).
- Lee, E.-H., Kim, S.-K., and Cho, G.-D., "Nutritional Component and Health in the Fishery Resources of the Coastal and Offshore Waters in Korea," Youil publishing Co., Busan, Korea 43-46 (1977).
- Chan, D. C., Watts, G. F., Mori, T. A., Barrett, P. H., Redgrave, T. G., and Beilin, L. J., "Randomized Controlled Trial of the Effect of *n*-3 Fatty Acid Supplementation on the Metabolism of Apolipoprotein B-100 and Chylomicron Remnants in Men with Visceral Obesity," *Am. J. Clin. Nutr.*, **77**(2), 300-307 (2003).
- Dallongeville, J., Yarnell, J., Ducimetiere, P., Arveiler, D., Ferrieres, J., Montaye, M., Luc, G., Evans, A., Bingham, A., Hass, B., Ruidavets, J. B., and Amouyel, P., "Fish Consumption is Associated with Lower Heart Rates," *Circulation*, **108**(7), 820-825 (2003).
- James, M. J., and Cleland, L. G., "Dietary Polyunsaturated Fats and Inflammation," *Proc. Nutr. Soc. Aust.*, **20**, 71-76 (1996).
- James, M. J., Gibson, R. A., and Cleland, L. G., "Dietary Polyunsaturated Fatty Acids and Inflammatory Mediator Production," *Am. J. Clin. Nutr.*, **71**(1), 343-348 (2000).
- Pischon, T., Hankinson, S. E., Hostamisliligil, G. S., Rifai, N., Willett, W. C., and Rimm, E. B., "Habitual Dietary Intake of *n*-3 and *n*-6 Fatty Acids in Relation to Inflammatory Markers among US Men and Women," *Circulation*, **108**(2), 155-160 (2003).
- Nichols, P. D., Mooney, B. D., and Elliott, N. G., "Nutritional Value of Australian Seafood II. Factors Affecting Oil Composition of Edible Species: Report Prepared for the Fisheries Research and Development Corporation," CSIRO Marine Research, Hobart, Australia, 199 (2002).
- Erkkila, A. T., Lehto, S., Pyorala, K., and Uusitupa, M. I., "*n*-3 Fatty Acids and 5-y Risks of Death and Cardiovascular Disease Events in Patients with Coronary Artery Disease," *Am. J. Clin. Nutr.*, **78**(1), 65-71 (2003).
- Lemaitre, R. N., King, I. B., Mozaffarian, D., Kuller, L. H., Tracy, R. P., and Siscovick, D. S., "*n*-3 Polyunsaturated Fatty Acids, Fatal Ischemic Heart Disease, and Nonfatal Myocardial Infarction in Older Adults: The Cardiovascular Health Study," *Am. J. Clin. Nutr.*, **77**(2), 319-325 (2003).
- Yoo, B.-S., Lee, H.-T., Ko, S.-R., Yang, D.-C., and Byun, S.-Y., "Studies on the Extraction of Polyacetylene from Korean Ginseng using Supercritical Carbon Dioxide," *Korea T. Biotechnol. Bioeng.*, **15**(1), 80-83 (2000).
- Joung, S. N., Kim, S. T., and Yoo, K. P., "Ultra Dry-Cleaning Technology using Supercritical Carbon Dioxide," *Clean Technology*, **7**(1), 13-25 (2001).
- Meyer, A., Kleibohmer, W., and Camman, K., "SFE of PAHs from Soils with a High Carbon Content and Analyte Collection via Combined Liquid/solid Trapping," *J. High Resolut. Chromatogr.*, **16**(8), 491-494 (1993).
- Berset, J. D., Ejem, M., Holzer, R., and Lischer, P., "Comparison of Different Drying, Extraction and Detection Techniques for the Determination of Priority Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Background Contaminated Soil Samples," *Anal. Chim. Acta*, **383**(3), 263-275 (1999).
- Heemken, O. P., Theobald, N., and Wenclawiak, B. W., "Comparison of ASE and SFE with Soxhlet, Sonication, and Methanolic Saponification Extractions for the Determination of Organic Micropollutants in Marine Particulate Matter," *Anal. Chem.*, **69**(11), 2171-2180 (1997).
- Hawthorne, S. B., Grabanski, C. B., Martin, E., and Miller, D. J., "Comparisons of Soxhlet Extraction, Pressurized Liquid Extraction, Supercritical Fluid Extraction and Subcritical Water Extraction for Environmental Solids: Recovery, Selectivity and Effects on Sample Matrix," *J. Chromatogr. A*, **892**(1), 421-433 (2000).
- Hartonen, K., Meissner, G., Kesala, T., and Riekkola, M.-L., "Pressurized Hot Water Extraction (PHWE) of *n*-alkanes and Polyaromatic Hydrocarbons (PAHs): Comparison for PAHs with Supercritical Fluid Extraction," *J. Microcol. Sep.*, **12**(7), 412-418 (2000).
- Assis, L. M., Pinto, J. S. S., and Lancas, F. M., "Comparison among Different Extraction Methods (PFE, SFE, Sonication, Soxhlet) for the Isolation of Organic Compounds from Coal," *J. Microcol. Sep.*, **12**(5), 292-301 (2000).
- Hawthorne, S. B., and Miller, D. J., "Direct Comparison of Soxhlet and Low- and High-temperature Supercritical CO₂ Extraction Efficiencies of Organics from Environmental Solids," *Anal. Chem.*, **66**(22), 4005-4012 (1994).
- Schantz, M. M., Bøwadt, S., Benner, B. A., Wise, S. A., and Hawthorne, S. B., "Comparison of Supercritical Fluid Extraction and Soxhlet Extraction for the Determination of Polychlorinated Biphenyls in Environmental Matrix Standard Reference Materials," *J. Chromatogr. A*, **816**, 213-220 (1998).
- Bjorklund, S., Bøwadt, S., Nielsson, T., and Mathiasson, L., "Pressurized Fluid Extraction of Polychlorinated Biphenyls

- in Solid Environmental Samples," *J. Chromatogr. A.*, **836**(2), 285-293 (1999).
22. Lee, Y. Y., "Technique using Supercritical Fluid (I)," *New & Information for Chemical Engineers*, **23**(3), 298-301 (2001).
 23. Turner, C., King, J. W., and Mathiasson, L., "Supercritical Fluid extraction and Chromatography for Fat-soluble Vitamin Analysis," *J. Chromatogr. A.*, **936**(1-2), 215-237 (2001).
 24. Chun, B.-S., Kim, Y.-W., Song, S.-K., Kim, S.-K., and Wilkinson, G. T., "Extraction and Fractionation of Lipids from Squid Internal Organs using Supercritical Carbon Dioxide with Entrainer," Proceedings of 5th ISASF Meeting. March 23-25. Nice, France (1998).
 25. Chun, B.-S., Kang, K.-Y., Ahn, D.-H., and Wilkinson, G. T., "Extraction of Liquids and Cholesterol from Squid Oil with Supercritical Carbon Dioxide," *Korean J. Chem. Eng.*, **22**(3), 399-405 (2005).
 26. Timon, M. L., Ventanas, J., Martin, L., Tejada, J. F., and Garcia, C., "Volatile Compounds in Supercritical Carbon Dioxide Extracts of Iberian Ham," *J. Agric. Food Chem.*, **46**(12), 5143-5150 (1998).
 27. Taylor, D. L., and Larick, D. K., "Investigations into the Effect of Supercritical Carbon Dioxide Extraction on the Fatty Acid and Volatile Profiles of Cooked Chicken," *J. Agric. Food Chem.*, **43**(9), 2369-2374 (1995).
 28. Kim, H.-S., Lee, S.-Y., Kim, B.-Y., Lee, E.-K., Ryu, J.-H., and Lim, G.-B., "Effects of Modifiers on the Supercritical CO₂ Extraction of Glycyrrhizin from Licorice and the Morphology of Licorice Tissue After Extraction," *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, **9**(6), 447-453 (2004).
 29. Bligh, E. G., and Dyer, W. J., "A Rapid Method of Lipid Extraction and Purification," *Can. J. Biochem. Physiol.*, **37**(52), 911-917 (1959).
 30. AOAC "Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL: AOAC Official Method," 996.06. 17th ed., AOAC International, Gaithersburg, MD, USA (2000).
 31. US EPA Method To-17A "Compendium of Methods for the Determination of Toxic Organic Compounds in Ambient Air, Determination of Volatile Organic Compounds in Ambient Air Using Active Sampling Onto Sorbent Tube," 2nd ed., 9-22. Center for Environmental Research Information, Ohio, USA (1999).
 32. Reutergardh, L. B., Parkpian, P., and Chaiyaraksa, C., "Supercritical Fluid Extraction of Planar and Mono-ortho PCB in Selected Tropical Soils," *Chemosphere*, **36**(7), 1565-1573 (1998).
 33. Bae, W., Shin, B. H., Kang, H. S., and Kim, H. Y., "A Study on the Removal of Aromatic Compounds from Soil and Zeolite Using Supercritical Carbon Dioxide," *Clean Technology*, **9**(4), 197-206 (2003).
 34. Zlatanov, S., and Laskaridis, K., "Seasonal Variation in the Fatty Acid Composition of Three Mediterranean Fish Sardine (*Sardina pilchardus*), Anchovy (*Engraulis encrasicolus*) and Picarel (*Spicara smaris*)," *Food Chemistry*, **103**(3), 725-728 (2007).
 35. Kim, J.-S., Yang, S.-K., and M.-S. Heu., "Food Component Characteristics of Plain Dried Anchovies on the Market," *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **29**(1), 20-25 (2000).
 36. Budowski, P., "Review: Nutritional Effects of ω -3 Polyunsaturated Fatty Acids," *Irish J. Med. Sci.*, **17**, 223-231 (1981).
 37. Roh, H.-S., Park, J.-Y., Park, S.-Y., and Chun, B.-S., "Isolation of Off-flavor and Odors from Tuna Fish Oil using Supercritical Carbon Dioxide," *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, **11**(6), 496-502 (2006).
 38. Kang, K.-Y., Ahn, D.-H., Jung, S.-M., Kim, D.-H., and Chun, B.-S., "Separation of Protein and Fatty Acids from Tuna Viscera using Supercritical Carbon Dioxide," *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, **10**(4), 315-321 (2005).