



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](#)

工學碩士 學位論文

홍어(*Okamejei Kenojei*) 부산물 중  
홍어 간을 이용한 기능성 유지의  
정제 및 특성



2018年 8月

釜慶大學校 大學院

食 品 工 學 科

柳 膺 晟

工學碩士 學位論文

홍어(*Okamejei Kenojei*) 부산물 중  
홍어 간을 이용한 기능성 유지의  
정제 및 특성

指導教授 梁志榮

이 論文을 工學碩士 學位論文으로 提出함.

2018年 8月

釜慶大學校 大學院

食品工學科

柳膺晟

柳膺晟의 工學碩士 學位論文으로 認准함

2018年 8月



주 심 약학박사 김 영 목



위 원 농학박사 이 양 봉



위 원 농학박사 양 지 영



# 목 차

Abstract .....	iii
I. 서론 .....	1
II. 실험방법 및 재료 .....	4
1. 실험 재료 및 기구 .....	4
2. 증자압착법 .....	4
3. 유기용매 추출법 .....	4
4. 탈검 .....	5
5. 탈산 .....	5
6. 탈색 .....	6
7. 탈취 .....	6
8. 냉침 .....	6
9. 산화방지제 처리로 인한 저장성 향상 측정 .....	7
10. 인의 함량 측정 .....	9
11. 산가의 측정 .....	9
12. TBA가 측정 .....	12
13. 색도 및 수율 측정 .....	12
14. 과산화물가의 측정 .....	12
15. 휘발성 유기화합물의 측정 .....	13
16. 요오드가의 측정 .....	14

17. 지방산 조성 분석 .....	14
18. 통계처리 .....	15
III. 결과 및 고찰 .....	17
1. 추출방법에 따른 유지 수율 비교 분석 .....	17
2. 탈검 조건에 따른 인의 함량 변화 .....	17
3. 탈산 조건의 설정 및 성상의 변화 .....	26
4. 탈색 조건의 설정 및 성상의 변화 .....	31
5. 탈취 조건의 설정 및 성상의 변화 .....	37
6. 정제에 따른 지방산 조성의 변화 .....	41
7. 냉침에 따른 지방산 함량 변화 .....	41
8. 산화방지제 처리로 인한 저장성 변화 .....	46
IV. 요약 .....	56
V. 참고문헌 .....	59
VI. 감사의 글 .....	64

Purification and Characterization of Functional Oil  
from Skate(*Okamejei Kenojei*) Liver

Eung Seong Yu

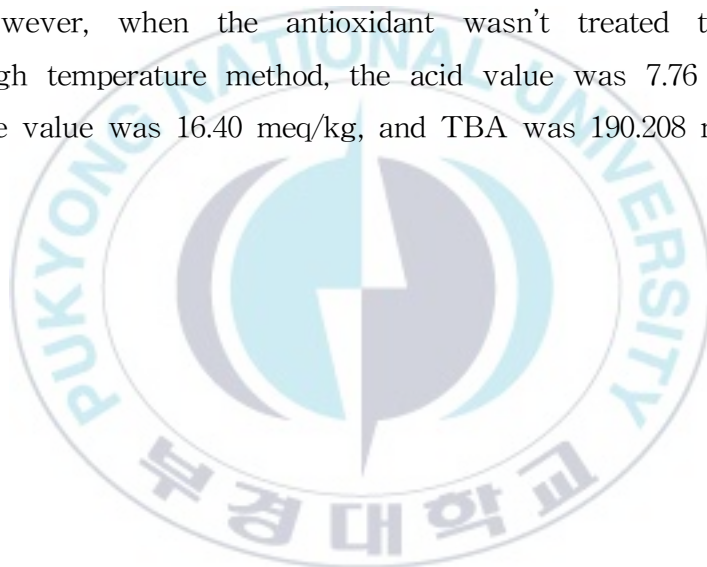
Department of Food Science and Technology, Graduate School  
Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

**Abstract**

The purpose of this study was to search the most effective oil purification method from liver of skate. The sample was supplied from Na-ju fishery Co., Ltd. in Jeollanam-do. The raw oil was extracted from liver of skate using an organic solvent extraction method (Folch method) and a pressure-high temperature method. The yield of raw skate liver oil extracted using organic solvent method and pressure-high temperature method was 43.6% and 26.2% of liver of skate, respectively. The phospholipid was removed from raw skate liver oil with 6% citric acid solution for the degumming. The phosphorus content of raw skate liver oil extracted with organic solvent method was decreased from 89.78 mg/kg to 0.23 mg/kg. Also, the phosphorus content of raw skate liver oil extracted with pressure-high temperature method was decreased from 87.76 mg/kg to 0.398 mg/kg. The free fatty acid was eliminated by treating 4% sodium hydroxide solution for the deacidification. After deacidification of oil, the acid value was 0.18 mg KOH/g, the peroxide value was 1.37 meq/kg and the yield was 83% in case of using organic

solvent extraction method. Also, in case of using the pressure-high temperature method, the acid value was 0.12 mg KOH/g, peroxide value was 2.76 meq/kg and yield was 85%. Then, for the decolorization, the oil was treated with 5% activated charcoal solution. When the oil using the organic solvent extraction method was treated with 5% activated charcoal, the acid value was 0.05 mg KOH/g, the peroxide value was 1.21 meq/kg, the yield was 37% and the iodine value was 134.2. Also, after decolorization process of the oil using the pressure-high temperature method, the acid value was 0.05 mg KOH/g, the peroxide value was 2.68 meq/kg, the yield was 29% and the iodine value was 135.42. The chromaticity change of each purification process by organic solvent extraction method was from L : 40.76, a : +15.69, b : +8.98 for raw oil to L : 54.05, a : -2.59, b : +8.98 for decolorization oil. Also, The chromaticity change of each purification process by pressure-high temperature method was from L : 39.19, a : +8.48, b : +24.58 for raw oil to L : 51.3, a : -3.34, b : +8.98 for decolorization oil. Before the deodorization process, ammonia contents of oil using organic solvent extraction method and pressure-high temperature method was 35ppm and 46 ppm, respectively. After treating with 7% bamboo smoke distillate, those were significantly decreased to 1 ppm and 4 ppm, respectively. Amount of docosahexaenoic acid (DHA) and eicosapentaenoic acid (EPA) in skate liver oil were measured by gas chromatography after every purification process. Total amount of EPA and DHA in raw skate liver oil extracted with organic solvent method and pressure-high temperature were 219.586 mg/g and 235.65 mg/g, respectively. Final total amount of EPA and DHA after the purification of organic solvent extraction method and pressure-high temperature method were 282.046 mg/g, 291.754 mg/g, respectively. Low temperature crystallization experiment was carried out to reduce saturated fatty acids

and increase the composition of omega-3 fatty acids. Total amount of EPA and DHA after the low temperature crystallization of organic solvent extraction method and pressure-high temperature method were 316.444 mg/g, 310.277 mg/g, respectively. After antioxidant was added to the oil extracted with both organic solvent method and pressure-high temperature method, there was no significant change in acid value, peroxide value and TBA value after 96 hours. However, when the antioxidant wasn't treated oil using organic solvent extraction method, the acid value was 6.59 mg KOH/g, the peroxide value was 15.75 meq/kg, and TBA was 189.312 mg/kg. However, when the antioxidant wasn't treated to oil using pressure-high temperature method, the acid value was 7.76 mg KOH/g, the peroxide value was 16.40 meq/kg, and TBA was 190.208 mg/kg.



# I. 서론

일반적으로 수산생물은 식품분야 뿐만 아니라 화장품, 의약산업 분야에서도 중요성이 높아지고 있으며, 육상생물과 달리 EPA(eicosapentenoic acid, 20:5, n-3), DHA(docosahexaenoic acid, 22:6, n-6) 등 n-3 고도불포화지방산(polyunsaturated fatty acid)을 풍부하게 다량 함유하고 있어 생리적 기능이 우수하다. 하지만, 어획 후 손상되기 쉽고(Park, 2009), 선도 하락이 빠르게 진행되며 머리, 내장, 뼈 등 먹을 수 없는 비가식 부위가 대략 40% 정도 발생하는데, 이들은 자연경관을 해치거나 환경오염을 유발하며 폐기물로서 운반되어 주로 사료 또는 어분의 원료로 재활용되지만 폐기되는 비율 또한 높다(Kim et al., 2015). 세계적으로 수산물 생산량은 1억 9,572만 톤이며, 우리나라의 경우 330만 4,772톤(해조류 포함)의 수산물을 생산하여 세계 14위를 차지하고 있고, 1인당 국내 연간 수산물 소비량은 01년 42.2kg에서 15년 59.9kg으로 증가하는 추세를 보이고 있다(FAO, 2014; 해양수산부, 2017). 하지만 수산 부산물 발생량 또한 대체로 80만 톤 전후로 발생하고 있으며 소각, 매립, 해양배출의 형태로 처분을 하며 낮은 수준의 가공을 통해 재활용되고 있지만 자원의 효율적인 활용이 이루어지지 않고 있는 상황이다(Lee et al., 2013). 이들 수산가공 부산물 및 미이용 해양생물자원들은 다양한 생리 기능성 물질들을 함유하고 있어 이를 보다 고부가가치 상품으로 활용할 수 있는 연구가 필요하다(Kim, 2003).

홍어(*Okamejei Kenojei*)는 가오리과 혹은 홍어과에 속하는 연골어류로서, 우리나라의 남서해 및 일본의 중부 이남 해역과 동중국해에 많이 분포하고 있다. 영양학적으로 홍어의 주요 성분은 수분 79.9%, 단백질 19.2%, 지질 0.9%, 당질 0%, 섬유 0%, 회분 1.0%, 칼슘 64 mg%, 인 131 mg% 등으로 보고되어 있다(Yoo, 2003). 숙성 홍어회 가공공정 중 가식부위는 날개 48%,

몸살 14%이다. 홍어에는 성장 발달에 중요한 기능을 수행하는 Taurin은 콜레스테롤 축적을 예방하는 효과가 있으며(Huxtable, 1992), 감칠맛을 증가시켜 주고 근육의 완충 역할을 하는 anserine, 두뇌 성장 발달과 인지 기능을 향상시켜주는 필수지방산이 다량 함유되어 있으며, 혈전증 예방과 시각 강화 기능을 지닌 기능성 성분이 함유되어 있다(Cho et al., 2008). 홍어의 부산물의 경우 뼈 21%, 껍질 11%, 내장 5.7%, 간 0.3%로 부산물이 총 비율의 38%를 차지한다. 홍어는 가식부위 외의 부산물들은 단백질이나 지방이 많이 함유되어 있어 유용한 기능성 성분으로 활용이 가능하다(Lim, 2003). 특히, 홍어 간유에는 LDL-cholesterol을 감소시키며, HDL-cholesterol을 증가시키고, 중성지방을 저하하는 작용이 있는 EPA와 DHA 같은 오메가-3 지방산이 다량 함유되어 있어 관상동맥질환, 혈전증을 예방하는 효과가 있고(Lee et al., 2008), 순환기 계통의 질환(Lauritzen et al., 2001)과 뇌기능 향상, 심혈관 질환을 예방할 수 있는 성분으로 확인이 되어 있다(Kris-Etherton et al., 2002). EPA와 DHA의 전구체인  $\alpha$ -linolenic acid는 체내에서 합성이 되지 않으며 EPA와 DHA로 전환하는 효율성이 매우 낮으므로(Harris et al., 2009) 체내 합성의 다른 공급원으로 어유 보조제나 조류 보조제 등을 이용하는 것이 훨씬 효율적이다. 현재까지 상어(Lee et al., 2011), 오징어(Park et al., 2011), 복어(Ihm., 1998)의 간유를 추출하여 많은 기능성 성분들을 정제하였지만 홍어의 간을 이용한 기능성 성분의 정제는 미비한 실정이므로 많은 연구가 필요하다. 어유에는 불순물인 단백질, 유리지방산, 색소, 중금속 등을 함유하고 있어 원료 유지로 사용하는데에 어려움이 있으며 가공 및 저장안정성에도 문제가 있어 일반적으로 탈검, 탈산, 탈색, 탈납, 탈취 등의 정제를 필요로 한다(Yamguchi, 1998). 탈검은 인지질 속의 lecithin을 불용상태로 만들어 다음 공정을 수월하게 하다. 탈산은 품질 저하 원인 물질인 유리지방산을 제거하기 위하여 알칼리 공정을 이용하며 탈색은 흡착제를 사용하여 잔류 색소 물

질을 제거하는 공정이다(Kim et al., 2003). 탈납은 규조토를 이용하여 중금속을 제거하는 공정이며 탈취는 고온의 수증기를 이용하여 휘발성 물질을 제거하는 공정이다.

본 연구에서는 홍어 부산물 중 간을 사용하여 유지를 추출한 후 각 정제 공정 단계의 최적의 조건을 확립하고 특성을 분석한 후, 기능성 성분인 EPA와 DHA의 함량을 gas chromatography로 분석함으로써 Codex 기준으로 건강기능식품의 원료로의 사용 가능 여부를 확인하였다.



## II. 실험 재료 및 방법

### 1. 실험 재료 및 기구

본 실험에 사용한 시료는 수산물 가공 업체인 (주)나주수산으로부터 제공받아 홍어 부산물인 애를  $-25^{\circ}\text{C}$  냉동 보관하여 실험 하였다.

사용된 시약은 특급시약을 사용하였으며 희석한 시약들은  $4^{\circ}\text{C}$ 에 보관하면서 실험하였다. 인의 함량 분석을 위하여 유도결합플라즈마 분광분석기(ICP, 5100 ICP OES, Aglient technologies, California, USA)로 분석하였으며, 휘발성 성분을 측정하기 위하여 자동 열 탈착기(TD100-xr, California, USA)를 사용하였고, 오메가-3 지방산의 함량을 분석하기 위하여 gas-chromatography (YL 6500 GC, Aglient technologies, California, USA)를 이용하였다.

### 2. 증자압착법

시료의 근육을 세절한 다음  $100^{\circ}\text{C}$ 의 물을 끓여 찜기에 넣은 후, 1시간 증자하여 나온 액을 진공여과를 하여 잔여물을 제거하였다.

### 3. 유기용매 추출법

시료의 근육을 세절한 다음 시료의 4배량의 chloroform : methanol(2:1 v/v)용액으로 24시간 침지 후, 분액깔때기로 10% sodium chloride를 이용하여 세척하였고, sodium sulfate anhydrous과 filter paper를 이용하여 탈수여

과를 한 후, rotatory evaporator (R-300, BUCHI, Flawil, Switzerland)를 이용하여 유기용매를 제거하였다(Bligh and Dyer, 1959).

#### 4. 탈검

유지에 존재하는 lecithin을 비롯한 검질(gums)과 인지질은 유화성을 가지고 있으며 탈산 공정에서 생성되는 유리지방산염의 분리를 어렵게 하고 갈변 등 좋지 않은 영향을 미치기 때문에 인산 등의 처리를 행하는 탈검 공정을 통하여 제거를 해야하며(Kim and Ahn, 1988), 이 공정으로 단백질 또한 제거가 된다. 이 공정을 위해 식품첨가물로 사용되는 citric acid를 사용하였으며, 원료유지에 60℃로 가열한 citric acid 수용액의 농도 비율(2%, 4%, 6%, 8%)을 달리하여 첨가 후 60℃, 300 rpm으로 20분간 교반을 한 후, 1,500 rpm에서 15분간 원심분리하여 인지질을 포함한 검질을 분리하였다. 검질이 분리된 유지는 유도결합플라즈마 분광분석기를 통해 인의 함량을 분석하여 인지질의 제거율이 가장 높은 조건을 조사하였다.

#### 5. 탈산

유지의 산패에 따라 유리지방산이 생성되며 이를 나타낸 값이 산가이다. 산가가 높으면 식용으로 부적합하기 때문에 알칼리수용액과 반응시켜, 유리지방산을 유리지방산염의 형태로 만든 후 제거하는 공정을 거치게 되는데 이 과정을 탈산이라고 한다. 탈검유에 각 농도별(1%, 2%, 3%, 4%, 5%)로 제조된 수산화나트륨 수용액을 첨가한 후 60℃에서 200 rpm으로 20분간 교반하여 반응시킨 후 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 유리지방산염이 분리된 상층의 유지를 취하였다. 그 후, 4℃의 물을 첨가하여 혼합한 뒤 분획 깔때기에 방치하고 하층의 액을 제

거하는 과정을 반복하여 수세한 후, 여과하여 잔여 유리지방산염과 수산화나트륨을 제거하였다. 산가, 과산화물가, 수율을 실험하여 가장 효과적인 탈산 조건을 조사하였다.

## 6. 탈색

유지에 포함된 색소와 납 등의 중금속을 제거하기 위하여 탈색 공정을 거치게 된다. 주로 활성탄, 규산마그네슘, 활성백토 등이 탈색제로 사용되며, 이 공정을 통해 색소의 흡착과 함께 산가, 과산화물가 또한 감소하게 된다. 탈산 후 수세한 유지의 무게 대비 비율의 첨가량(1%, 5%, 10%, 15%)을 달리한 활성탄을 첨가한 후 60℃에서 20분간 감압하에서 탈색하였다. 탈색제의 제거를 위해 감압여과를 통하여 여과필터를 통과시키고 과산화물가, 요오드가, 색도변화, 수율을 측정하였다.

## 7. 탈취

유지에 함유된 암모니아, 트리메틸아민은 신체기관의 통증, 구토, 알레르기, 어지러움, 호흡곤란 및 스트레스를 불러일으키는 대표적인 악취 유발 물질이다(Park, 2015). 악취 성분들을 제거하기 위해 식물성 천연물인 죽초액을 사용하였다(Kwoon et al, 2014). 탈색한 유지 무게대비 비율의 첨가량(1%, 3%, 5%, 7%)을 달리하여 죽초액을 첨가한 후, 휘발성 유기화합물 실험을 진행하였다.

## 8. 냉침

포화지방산의 감소와 오메가-3 지방산 조성의 증가를 위하여 저온결정법으로 냉침을 하였다(Gunstone et al, 1976). 시료대비 10배의 n-hexane과 탈색유를 혼합한 후 -70℃에서 12시간 방치하여 결정화한 후 분획여두를 이용한 흡입여과로 결정을 신속히 여과하여 분리하였다. 여과지에 남은 여액은 저온으로 유지된 n-hexane을 부어 다시 여과한 후, 합하였고 이 후 rotatory evaporator로 n-hexane을 제거하고 지방산 분석을 하여 냉침과정을 거치지 않은 정제유지와 비교하였다. 어유 정제과정은 Fig. 1에 나타내었다.

## 9. 산화방지제 처리로 인한 저장성 향상 측정

유지가 빛과 공기 그리고 온도 등의 외부에서 오는 요인과 접하게 되면 산화반응이 자동적으로 일어나게 되고 유지를 포함한 식품의 영양성분인 단백질, 탄수화물, 비타민, 색소 등과 결합되어 고유의 향미, 영양상분, 조직감이 변하게 되어 품질변화를 일으키게 된다(Han et al, 2011 ; Lee et al, 2004). 또한 산화로 인해 식품 내 필수지방산의 함량도 낮아지며, 지용성 비타민의 운반체 역할도 잃게 되며 산화로 인해 생성된 생성물들이 식품 내 잔존하면서 산패가 지속적으로 일어나게 된다(Aruoma, 1988). 그러므로 유지의 산패를 지연시키는 천연항산화제 중 녹차추출물인 catechin을 첨가하여 식품의 품질을 유지하고 향상시키는 실험을 진행하였다(Jae et al ; 2002. Bajerska et al. 2010). 탈취 공정을 마친 탈취유에 천연항산화제인 catechin을 첨가한 후 100℃의 항온수조에 0 h, 24 h, 48 h, 72 h, 96 h으로 구간을 나누어 천연항산화제를 첨가한 것과 첨가하지 않은 것에 대한 산가, 과산화물가, TBA가 실험을 진행하였다.

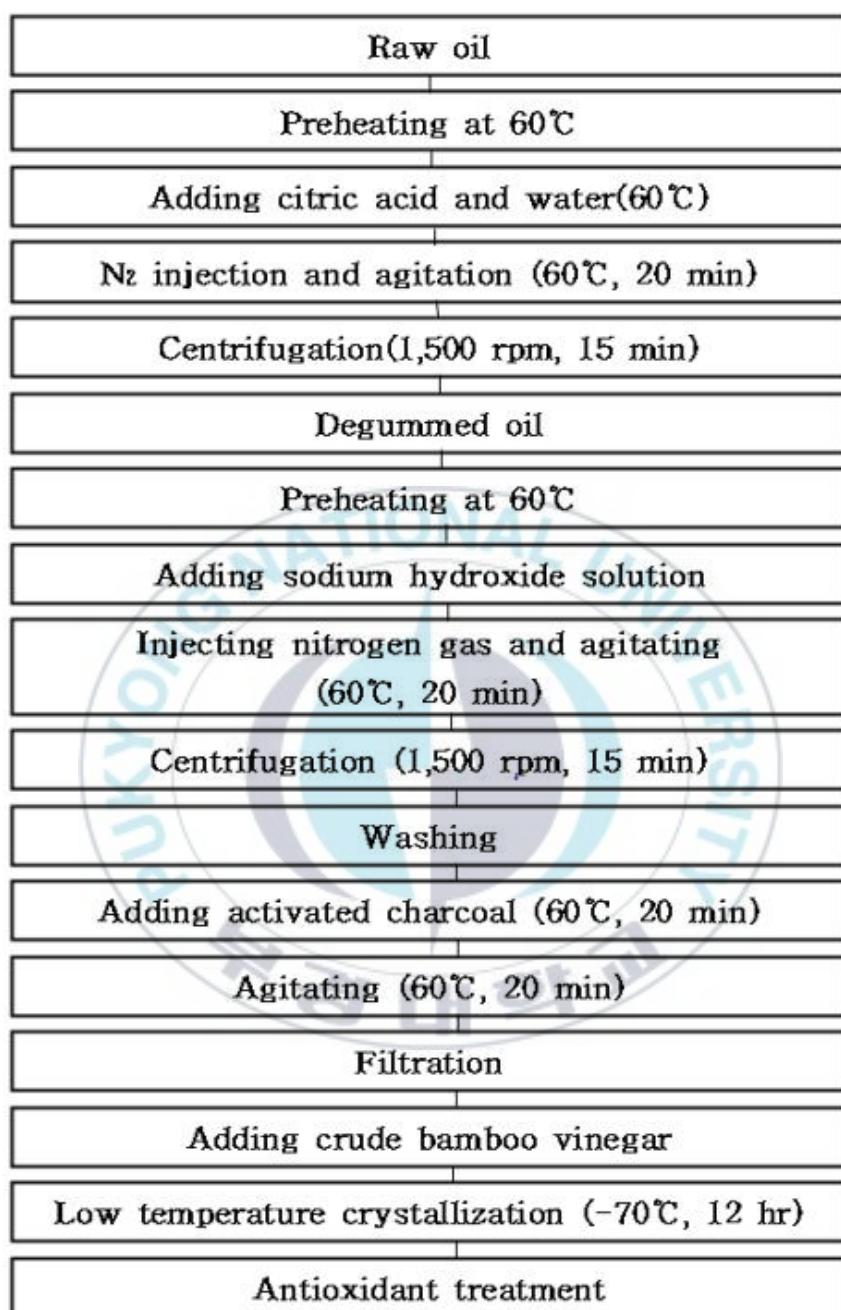


Fig 1. Flow chart for purification of sample oil

## 10. 인의 함량 측정

시료 20 g을 도가니에 취한 후 예비 탄화를 거쳐 회화로에서 500~550℃로 건식회화 하였다. 회화 후 회분에 0.5 N nitric acid를 가하고 가온하여 녹인 후 여과하였고 0.5 N nitric acid로 정용하여 유도결합플라즈마 분광분석기로 인의 함량을 분석하였으며, 기기분석의 조건은 Table. 1 와 같으며 표준인증물질 SRM(Standard Reference Material) BB384를 사용하여 인 함량 분석결과에 대한 자체 검증 및 보증하였다(Table 2).

## 11. 산가의 측정

산가는 유지 1 g중에 함유되어 있는 유리지방산을 중화시키는데 필요한 KOH의 mg수로 glyceride의 결합 형태로 있지 않는 유리지방산의 양을 측정하는 것이며 정제된 식용유에서 산가는 1.0이하로 측정된다.

시료 3 g을 250 ml 삼각플라스크에 취한 뒤 ethyl-ether : ethanol (2:1) 혼합용액 100 ml와 혼합하여 완전히 용해시킨 후, phenolphthalein 지시약 3방울을 가하고 0.1 N KOH-ethanol 용액으로 적정한 뒤 식에 대입하여 산가를 측정하였다(AOAC, 2006).

$$AV = \frac{5.611 \times a \times F}{b}$$

a : 0.1 N KOH-ethanol 소비량(ml)

b : 시료채취량(g)

F : 0.1 N KOH-ethanol의 역가

**Table 1. ICP conditions for phosphorus content determination**

ICP (Inductively Coupled Plasma)		
Instrument	Perkin Elmer OPTIMA 3300XL	
RF power(W)		1200
Pump(mL/min)		1.50
Gas flow (L/min)	Plasma	15
	Auxiliary	0.5
	Nebulizer	0.7

Table 2. Recovery ratio of phosphorus contents from SRM BB384

Mineral	Recovery ratio (%)	Reference
	Nitric acid Wet digestion	
P	103.79	SRM BB384

## 12. TBA가 측정

유지가 산패됨에 따라 생성되는 지방산화 2차 생성물인 malonaldehyde의 농도를 측정하는 원리로 시료 0.6 g을 벤젠 10 ml 넣은 후 충분히 용해시킨 후 TBA 시약 10 ml를 넣어 4분간 상온에 방치한다. 그 후 분액깔때기에 넣고 층분리가 일어나면 하층부만 분리하여 screw cap tube에 옮기고 30분간 95℃ 수욕상에서 가열하여 용액을 적자색으로 발색시킨 후 흐르는 물에 냉각을 하여 530 nm에서 흡광도를 측정한 후, 식에 대입하여 계산하였다(Moon et al, 2000).

$$TBA \text{ 가} = \frac{(S-B) \times 50}{W}$$

S = 본 시험의 530nm에서의 흡광도

B = 공 시험의 530nm에서의 흡광도

W = 유지의 중량(g)

## 13. 색도 및 수율 측정

색도의 변화는 각 정제과정의 색을 색도계(Serie sp60, Lovibond, Amesbury, UK)로 직경 1 cm의 cell을 이용하여 측정하여 Hunter의 L, a, b 값으로 나타내었고(Han and Ahn, 1993), 수율은 각각의 정제과정을 거친 시료와 거치기 전 시료의 부피에 대한 비로 나타내었다.

## 14. 과산화물가의 측정

과산화물가는 유지 1 kg에 함유된 과산화물의 mg당량수로 과산화물은 유지의 산화가 진행됨에 따라 증가하다가 carbonyl 화합물로 분해되어 결국에는 감소하는 특징이 있다. 이 값이 높을수록 식품으로서 부적당하며 보통 동물성 유지는 20~40 meq/kg일 때 산패 발생시기로 본다.

시료 3 g을 acetic acid:chloroform (3:2) 용액 30 ml와 혼합하여 유지를 용해시키고 potassium iodine 포화용액 1 ml 를 첨가한 뒤 강하게 흔들고 어두운 곳에 5분간 방치한 후, 30 ml의 증류수와 1% 전분지시액을 1 ml 넣고 0.01 N sodium thiosulfate ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) 용액으로 적정하고 식에 대입하여 계산하였다(AOAC, 1985).

$$POV = \frac{(a-b) \times F \times 0.01 \times 1000}{c}$$

a : 본 실험의 0.01 N  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  소비량(ml)

b : Blank의 0.01 N  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  소비량(ml)

c : 시료 채취량(g)

F : 0.01 N  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 의 역가

## 15. 휘발성 유기화합물 측정

첨가량을 달리한 죽초액을 넣은 유지를 50 ml vial병에 5 ml 씩 넣은 후 밀봉하여 60℃, 1시간 방치한다. 그 후, GASTECH(GASTEC Korea, GV-110s, Seoul, Korea)에 암모니아 검지관(NO. 3La, 2.5-200 ppm)을 연결한 후, 5~100 ppm까지 측정이 가능한 검지관을 이용하여 암모니아 함량의 결과값을 ppm 단위로 산출하였다(Seo, 2004).

## 16. 요오드가의 측정

요오드가는 불포화 지방산의 이중결합의 수를 나타내며 이 값이 높을수록 이중결합이 많음을 나타낸다. 시료 0.2 g을 chloroform 10 ml에 용해시킨 후, Wijs 시약 25 ml를 가하고 1시간 동안 암소에 방치한 후, 10% potassium iodine 용액 20 ml와 증류수 100 ml를 가하여 혼합하여, 0.1 N sodium thiosulfate 용액으로 적정한 후 아래의 식에 대입하여 계산하였다(AOAC, 1985).

$$IV = \frac{(a-b) \times F \times 0.01269 \times 100}{c}$$

a : Blank의 0.1N Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>소비량(ml)

b : 본 실험의 0.1N Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>소비량(ml)

F : 0.1N Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>의 역가

0.01269 : 0.1N Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 1ml에 상당하는 I<sub>2</sub>의 g수

c : 시료 채취량(g)

## 17. 지방산 조성 분석

Chloroform : methanol (2:1 v/v)용액으로 24시간 침지 후 분액깔때기로 10% NaCl을 이용하여 세척하고 sodium sulfate anhydrous를 이용하여 탈수 여과(Blight and Dyer, 1959)를 하고 rotatory evaporator를 이용하여 유기용매를 제거한 후 분석하였다. 유지 0.1 g에 0.5 N methanol을 2 ml 넣은 후 100℃에서 10분간 가열하였다. 그 후, 실온으로 냉각시킨 후 BF<sub>3</sub> 용액을 4 ml 가하였다. 그리고 100℃에서 40분간 가열하여 실온으로 냉각시키고

n-hexane을 2 ml 넣은 후 20초 vortex를 한다. 포화 NaCl을 5 ml 넣고 vortex를 한 후 상층액을 0.45  $\mu$ m syringe filter에 통과 시킨 후 gas chromatography로 분석하였다. 또한, docosahexaenoic methyl ester와 eicosapentaenoic methyl ester를 0.1, 0.5, 1, 5, 7.5, 10 ppm의 농도로 각각 제조 한 후, 지방산 조성 분석과 같은 조건으로 분석하여 원료유지, 탈검, 탈산, 탈색, 저온결정화 후의 유지에 대한 DHA와 EPA의 함량을 비교하였다.

Gas chromatography 분석조건은 Table 3에 나타내었다.

## 18. 통계처리

통계처리는 Statistical Analysis System(2000, SAS version 9.4) 프로그램을 이용하여 분산분석을 실시하였으며, 유의성이 인정되는 경우 LSD multiple range를 이용하여 평균값간의 유의성을 5% 이내의 수준에서 조사하였다.

Table 3. Analytical conditions of gas chromatography

Items	Conditions
Column	SP-2560 (100 m × 0.25 mm × 0.2 μm)
Carrier gas	Helium
Oven temperature	100°C (5 min) → 4°C (1 min) → 240°C (20 min)
Detect temperature	260°C
Inject temperature	250°C
Split ratio	10 : 1
Injection volume	1 μL

### Ⅲ. 결과 및 고찰

#### 1. 추출 방법에 따른 유지 수율 비교 분석

유기용매 추출 방법과 증자압착법을 이용하여 유지를 추출한 결과는 다음 Table 4 에 나타내었다. 1 kg 기준 으로 총 3반복 실험을 한 결과 유기용매 추출법의 경우 410 g/kg, 470 g/kg, 430 g/kg 으로 나왔으며 평균적으로 437 g/kg의 수율을 나타내었으며 증자압착법의 경우 270 g/kg, 230 g/kg, 250 g/kg으로 평균적으로 250 g/kg의 수율을 보였으며 홍어 껍질의 경우 유지 수율이 16.25 g/kg 으로(Kang and Jeong, 2012), 홍어 간의 많은 양의 지방이 있다고 판단하였다. 증자 압착법의 경우 원료 유지의 산가는 10.26 mgKOH/g 이며 과산화물가는 4.97 meq/kg으로 나타났으며 유기용매 추출법의 경우 산가 5.84 mgKOH/g, 과산화물가 6.43 meq/kg으로 나타났다. 식품 공전의 가공유지의 기준 규격은 산가는 0.6 mgKOH/g이며 과산화물가는 3.0 meq/kg으로(식품공전) 정제되지 않은 원료유지는 기준치를 초과한 것을 볼 수 있으며 각 정제 과정의 산가, 과산화물가 수치 비교 분석은 Table 5, Table 6, Fig. 2, Fig. 3 에 나타내었다.

#### 2. 탈검 조건에 따른 인의 함량 변화

Citric acid 수용액의 처리에 따른 인 함량 변화는 Table 7, Fig. 4, Fig. 5 에 나타내었다. 유기용매로 추출한 원료의 인 함량은 89.78 mg/kg을 나타내었으며 2% citric acid 수용액을 첨가 시 인 잔존 함량은 3.34 mg/kg으로 급격히 감소하였고 4%의 경우 인 함량은 0.51 mg/kg을 나타내었다. 6% citric

Table 4. Oil extract yield from organic solvent and pressure-high temperature

	Raw material(g)	Oil extract(g)	Oil extract(%)
Organic solvent method	1000	410	41
	1000	470	47
	1000	430	43
Pressure-high temperature method	1000	270	27
	1000	230	23
	1000	250	25

Table 5. Comparison of acid value after purification process in organic solvent and pressure-high temperature method

Acid value (mg KOH/g)	Organic solvent	Pressure-high temperature
Raw oil	5.84±0.05 <sup>a</sup>	10.26±0.2 <sup>a</sup>
Degumming(6%)	5.76±0.1 <sup>a</sup>	8.86±0.16 <sup>b</sup>
Deacidification(4%)	0.18±0.01 <sup>b</sup>	0.12±0.01 <sup>c</sup>
Decolorization(5%)	0.05±0.01 <sup>c</sup>	0.05±0.05 <sup>c</sup>

Table 6. Comparison of peroxide value after purification process in organic solvent and pressure-high temperature method

Peroxide value (meq/kg)	Organic solvent	Pressure-high temperature
Raw oil	6.43±0.04 <sup>a</sup>	4.97±0.05 <sup>a</sup>
Degumming(6%)	4.75±0.05 <sup>b</sup>	4.88±0.14 <sup>a</sup>
Deacidification(4%)	1.37±0.08 <sup>c</sup>	2.76±0.07 <sup>b</sup>
Decolorization(5%)	1.21±0.04 <sup>d</sup>	2.68±0.09 <sup>b</sup>

Table 7. Changes of phosphorous contents affected by different concentration of citric acid solution

Phosphorous content(mg/kg)	Contents of citric acid				
	Control	2%	4%	6%	8%
Organic solvent method	89.78±0.76	3.34±0.16 <sup>a</sup>	0.51±0.03 <sup>b</sup>	0.24±0.03 <sup>d</sup>	0.4±0.04 <sup>c</sup>
Pressure-high temperature method	87.76±1.38	3.61±0.08 <sup>a</sup>	1.15±0.13 <sup>b</sup>	0.40±0.01 <sup>c</sup>	0.45±0.07 <sup>c</sup>

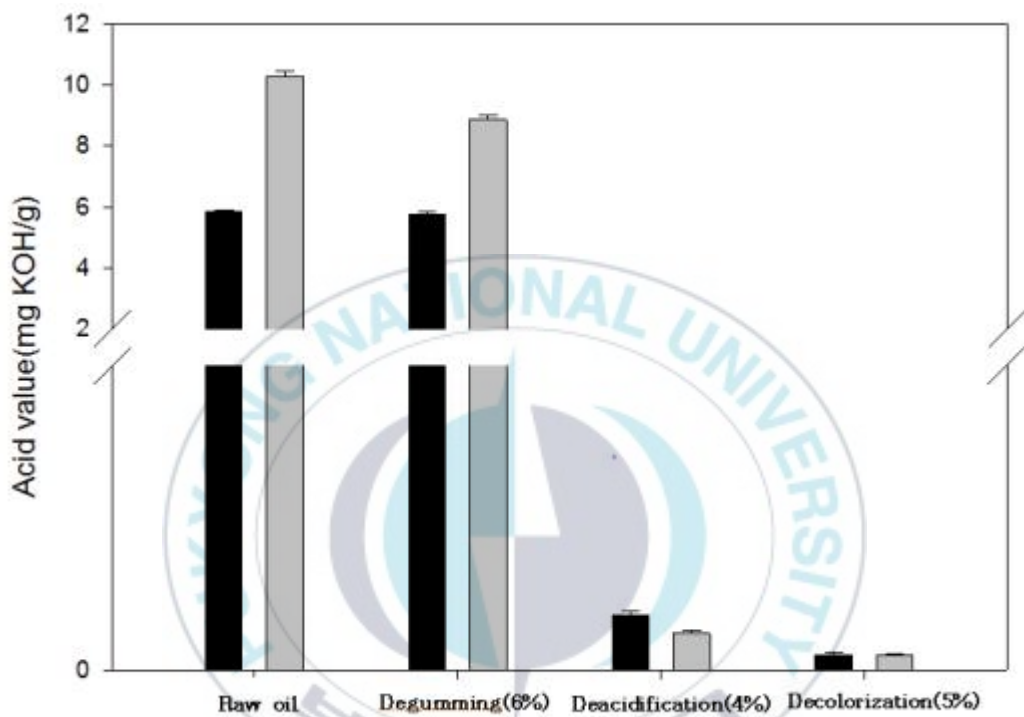


Fig. 2. Comparison of acid value after purification process in organic solvent and pressure-high temperature methods (■ : organic solvent method, ■ : pressure-high temperature method)

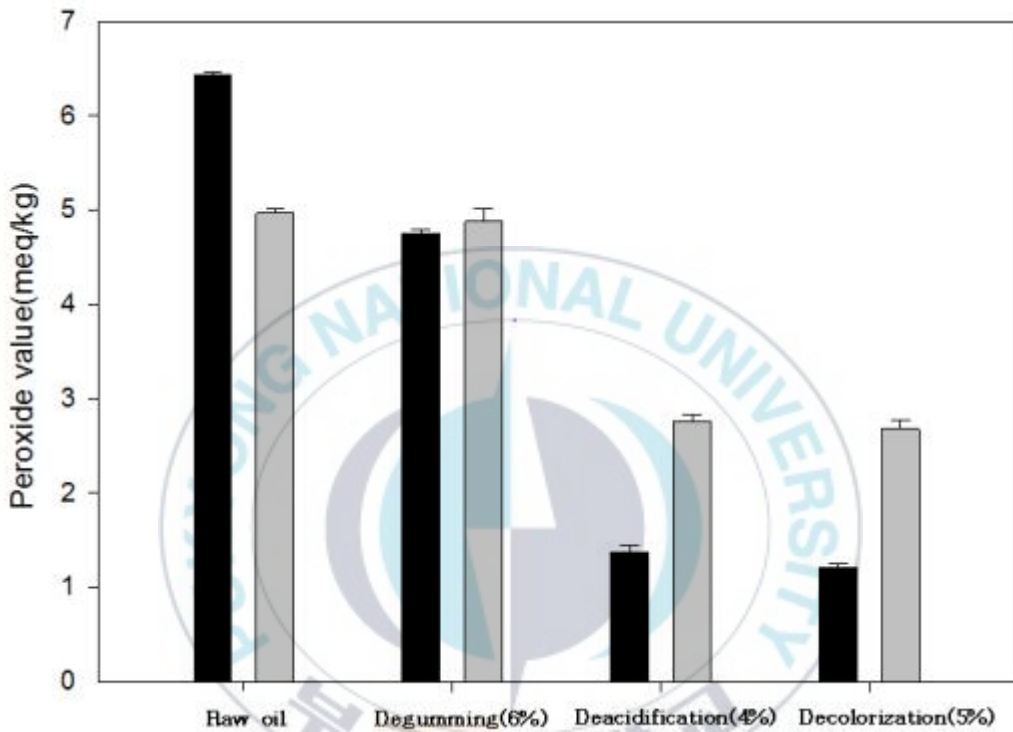


Fig. 3. Compare of peroxide value after purification process in organic solvent and pressure-high temperature methods (■ : organic solvent method, ■ : pressure-high temperature method)

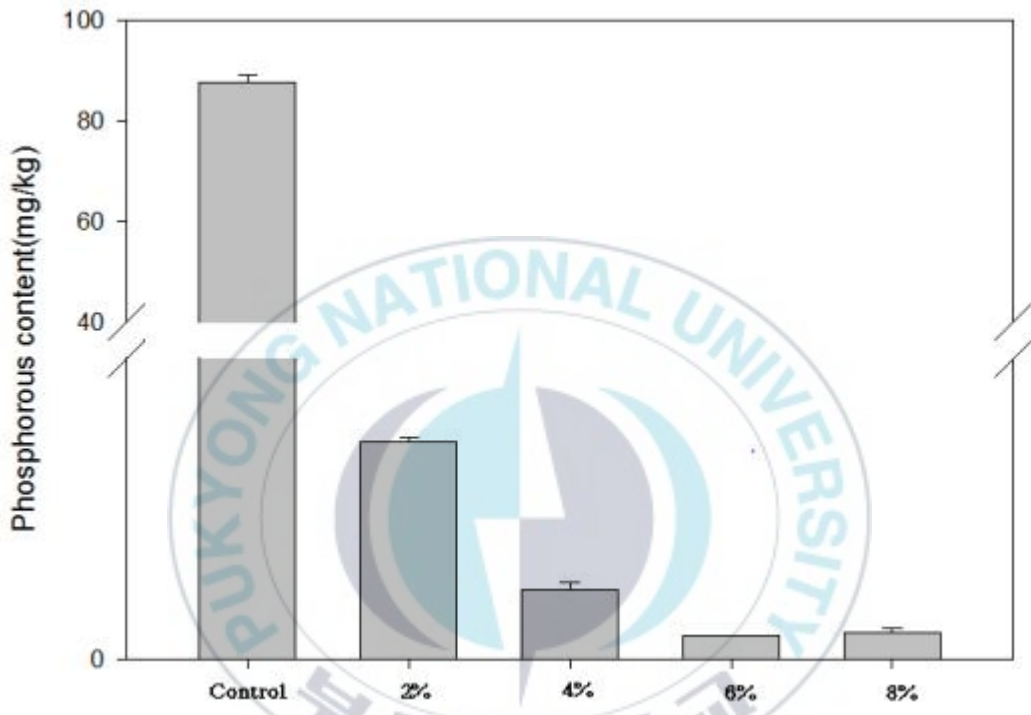


Fig. 4. Changes of phosphorous contents affected by different concentration of citric acid solution in pressure-high temperature method

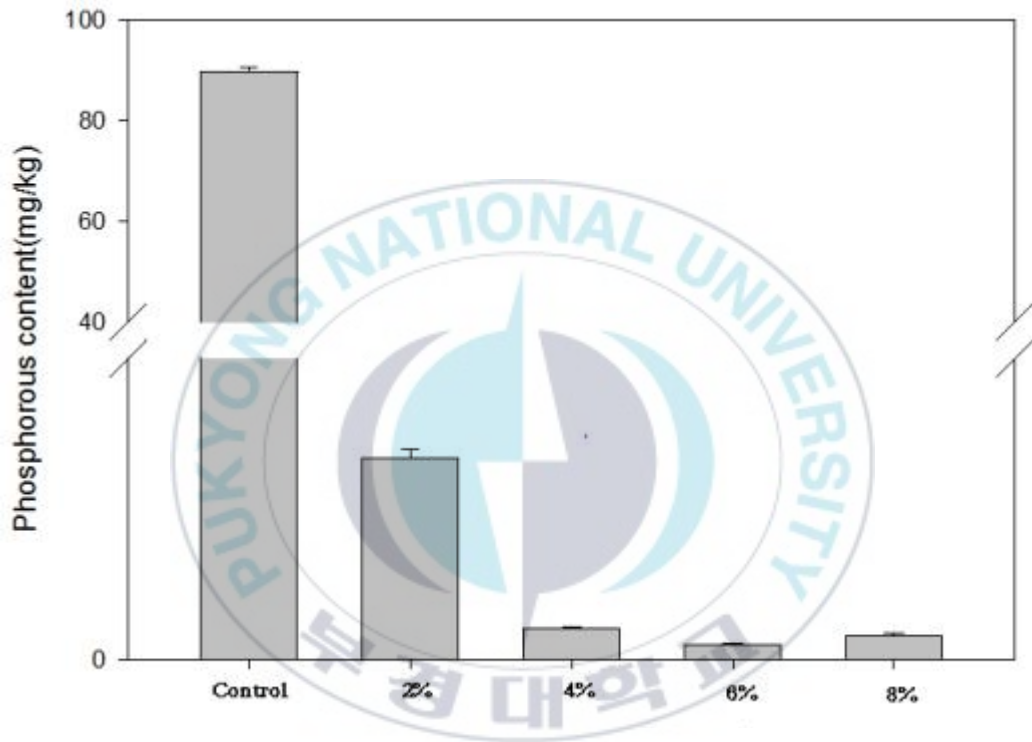


Fig. 5. Changes of phosphorous contents affected by different concentration of citric acid solution in organic solvent method

acid 수용액을 첨가했을 시 0.24 mg/kg으로 가장 낮은 인 함량을 보였으며, 그 이후에는 감소를 나타내지 않아 6% citric acid를 사용하는 것이 적절하다는 판단을 하였으며 증자압착법으로 추출한 원료의 인 함량은 87.76 mg/kg을 나타내었으며 2% citric acid 수용액을 첨가 시 인 잔존 함량은 3.61 mg/kg으로 역시 급격히 감소한 것을 볼 수 있었으며 4%의 경우 인 함량은 1.151 mg/kg을 나타내었다. 6% citric acid 수용액을 첨가했을 시 0.398 mg/kg으로 가장 낮은 인 함량을 보였으며, 그 이후에는 역시 감소를 나타내지 않아 6% citric acid 수용액을 사용하는 것이 적절하다는 판단을 하였으며 같은 수용액을 사용한 고등어의 경우 원료의 인 함량은 45 mg/kg에서 6.0 mg/kg으로 감소하였다(Kim, 2016). 이 조건으로 인 함량을 감소시킨 후 다음 단계의 정제를 진행하였다. 유기용매로 추출한 원료 유지에 6% citric acid 수용액을 처리한 탈검유의 산가는 5.76 mgKOH/g이며 과산화물가는 4.75 meq/kg이며 증자압착법으로 추출한 원료 유지에 6% citric acid 수용액을 처리한 탈검유의 산가는 8.86 mgKOH/g이며 과산화물가는 4.88 meq/kg으로 2가지 추출방법 모두 원료유지와 비교했을 시 유의적인 차이를 나타내지 않았다.

### 3. 탈산 조건의 설정 및 성상의 변화

수산화나트륨 수용액 처리에 따른 산과, 과산화물가, 수율 변화는 Table 8, Fig 6, Fig 7, Fig 8에 나타내었다. 유기용매를 이용한 탈검유에 1% 수용액으로 처리했을 시 산가 2.4 mgKOH/g, 과산화물가 3.37 meq/kg을 나타내었고 수율의 경우 72%를 보였으며 수용액의 농도가 높아질수록 점차적으로 감소한 것을 볼 수 있으며 4% 수용액으로 처리했을 시 산가 0.18 mgKOH/g, 과산화물가 1.37 meq/kg, 수율 83%로 나타났으며 그 이후로는 감소를 나타

Table 8. Changes of acid value, peroxide value and yields affected by different concentration of sodium hydroxide solution

		Concentration of sodium hydroxide solution				
		1%	2%	3%	4%	5%
Organic solvent method	Acid value (mg KOH/g)	2.4±0.05 <sup>a</sup>	1.87±0.03 <sup>b</sup>	0.36±0.02 <sup>c</sup>	0.18±0.01 <sup>d</sup>	0.4±0.06 <sup>c</sup>
	Peroxide value (meq/kg)	3.37±0.17 <sup>a</sup>	3.01±0.16 <sup>b</sup>	2.46±0.1 <sup>d</sup>	1.37±0.07 <sup>e</sup>	2.71±0.08 <sup>c</sup>
	Yield rate (%)	72±0.58 <sup>d</sup>	76±1.00 <sup>c</sup>	85±2.52 <sup>a</sup>	83±0.58 <sup>ab</sup>	81±1.53 <sup>b</sup>
Pressure-high temperature method	Acid value (mg KOH/g)	4.16±0.11 <sup>a</sup>	2.47±0.08 <sup>b</sup>	0.33±0.01 <sup>c</sup>	0.12±0.01 <sup>d</sup>	0.27±0.03 <sup>c</sup>
	Peroxide value (meq/kg)	3.94±0.10 <sup>a</sup>	3.1±0.18 <sup>b</sup>	2.84±0.07 <sup>c</sup>	2.76±0.11 <sup>c</sup>	2.94±0.10 <sup>bc</sup>
	Yield rate (%)	73±2 <sup>c</sup>	77±1 <sup>b</sup>	84±1 <sup>a</sup>	85±1 <sup>a</sup>	80±1.5 <sup>b</sup>

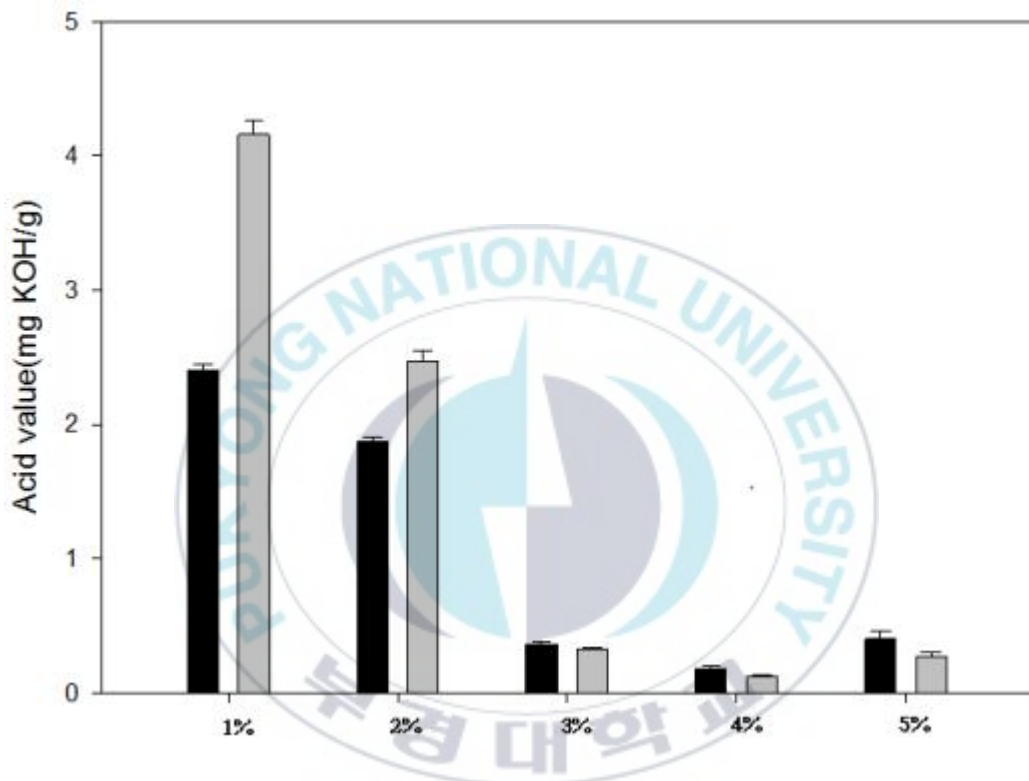


Fig. 6. Changes of acid value by different concentration of sodium hydroxide solution in organic solvent and pressure-high temperature methods

( : organic solvent method,  : pressure-high temperature method)

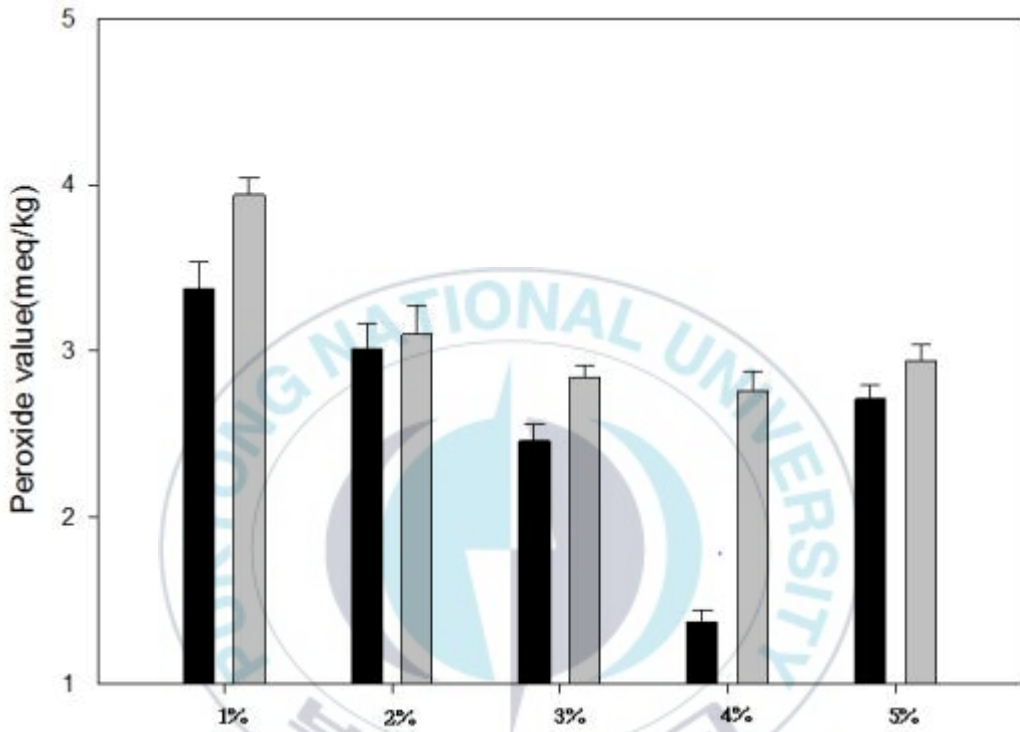


Fig. 7. Changes of peroxide value by different concentration of sodium hydroxide solution in organic solvent and pressure-high temperature methods

( : organic solvent method,  : pressure-high temperature method)



Fig. 8. Changes of yield rate by different concentration of sodium hydroxide solution in organic solvent and pressure-high temperature (■ : organic solvent method, ■ : pressure-high temperature method)

나지 않아 4% 수산화나트륨 수용액이 최적의 탈산 공정인 것을 확인 하였으며 증자압착법을 이용한 탈검유에 1% 수용액으로 처리 했을 시 산가 4.16 mg KOH/g, 과산화물가 3.94 meq/kg을 나타내었고 수율의 경우 73%를 보였으며 역시 수용액의 농도가 높아질수록 점차적으로 감소한 것을 볼 수 있었으며 4% 수용액으로 처리했을 시, 산가 0.12 mg KOH/g, 과산화물가 2.76 meq/kg, 수율 85%로 나타났으며, 그 이후로는 감소를 나타나지 않아 4% 수산화나트륨 수용액이 최적의 탈산 공정인 것을 확인하였고, 고등어 의 경우 산가가 18 mg KOH/g이었으며 8%의 수산화나트륨 수용액을 처리했을 시 1.12 mg KOH/g, 과산화물가 3.178 meq/kg으로 감소하였다(Kim, 2016).

#### 4. 탈색 조건에 따른 설정 및 성상의 변화

활성탄을 이용한 탈색 공정에 대한 산가, 과산화물가, 수율에 대한 결과를 Table 9, Fig. 9, Fig. 10, Fig. 11, Fig. 12에 나타내었다. 유기용매로 추출한 탈산유에 1% 수용액으로 처리했을 시 산가 0.14 mg KOH/g, 과산화물가 1.27 meq/kg, 수율 37%를 나타내었으며 5% 수용액을 처리했을 시 산가 0.05 mg KOH/g, 과산화물가 1.21 meq/kg, 수율 37%를 나타내어 감소한 것을 확인할 수 있었으며 10%, 15% 수용액을 첨가하였을 경우 산가의 수치가 상승하고 수율이 좋지 않아 5% 활성탄 수용액이 최적의 탈색 공정임을 확인을 하였고 증자압착법으로 추출한 탈산유의 경우 1% 수용액으로 처리했을 시 산가 0.1 mg KOH/g, 과산화물가 2.7 meq/kg, 수율 28%를 나타내었으며 5% 수용액을 처리했을 시 산가 0.05 mg KOH/g, 과산화물가 2.68 meq/kg, 수율 29%를 나타내어 감소한 것을 확인할 수 있었고, 10%, 15% 수용액을 처리했을 시 산가, 과산화물가 수치는 상승하고 수율의 경우 감소한 경향을 보였으

Table 9. Changes of acid value, peroxide value and yields affected by different concentration of activated charcoal in organic solvent

		Concent of activated charcoal solution			
		1%	5%	10%	15%
Organic solvent method	Acid value (mg KOH/g)	0.14±0.01 <sup>c</sup>	0.05±0.01 <sup>d</sup>	0.33±0.04 <sup>b</sup>	0.38±0.03 <sup>a</sup>
	Peroxide value (meq/kg)	1.27±0.05 <sup>a</sup>	1.21±0.05 <sup>ab</sup>	1.14±0.06 <sup>b</sup>	1.16±0.07 <sup>b</sup>
	Yield rate (%)	37±1 <sup>a</sup>	37±1.5 <sup>a</sup>	32±1.5 <sup>b</sup>	27±2.0 <sup>c</sup>
	Iodine value	139.53±3.11 <sup>a</sup>	134.2±2.75 <sup>b</sup>	141.19±2.24 <sup>a</sup>	137.12±1.31 <sup>ab</sup>
Pressure high temperature method	Acid value (mg KOH/g)	0.1±0.03 <sup>b</sup>	0.05±0.01 <sup>b</sup>	0.28±0.06 <sup>a</sup>	0.35±0.06 <sup>a</sup>
	Peroxide value (meq/kg)	2.7±0.09 <sup>b</sup>	2.68±0.12 <sup>b</sup>	2.82±0.09 <sup>ab</sup>	2.93±0.12 <sup>a</sup>
	Yield rate (%)	28±1.00 <sup>a</sup>	29±1.00 <sup>a</sup>	23±2.08 <sup>b</sup>	17 <sup>c</sup> ±3.06
	Iodine value	140.52±2.02 <sup>b</sup>	135.42±1.21 <sup>c</sup>	144.79±1.41 <sup>a</sup>	137.61±1.56 <sup>c</sup>

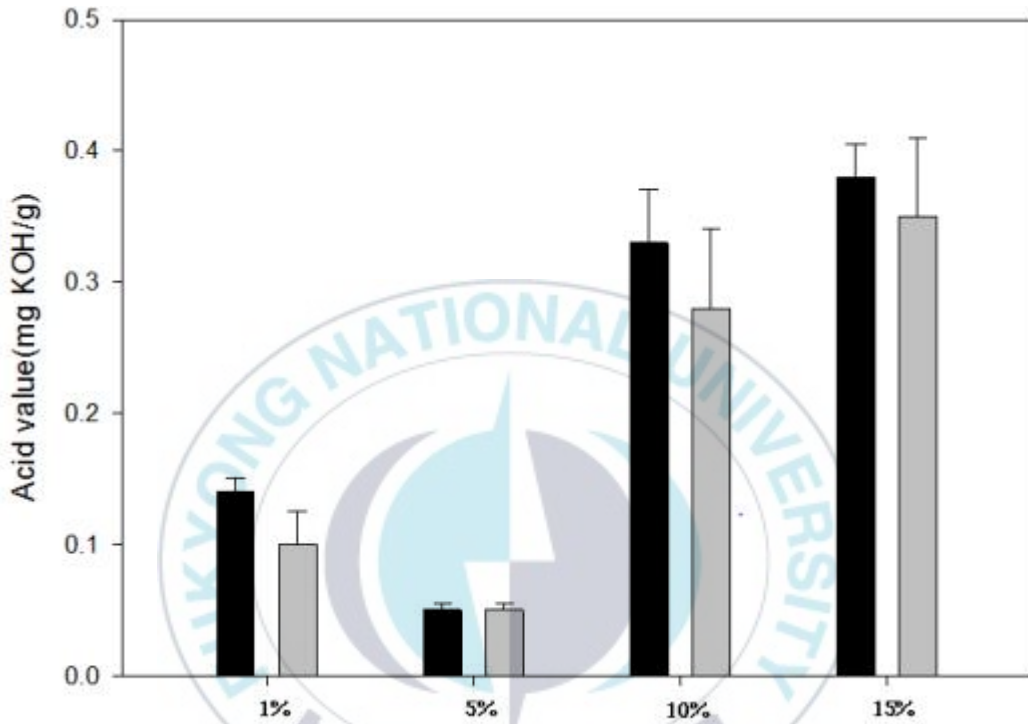


Fig. 9. Changes of acid value by different concentration of activated charcoal in organic solvent and pressure-high temperature (■ : organic solvent method, ■ : pressure-high temperature method)

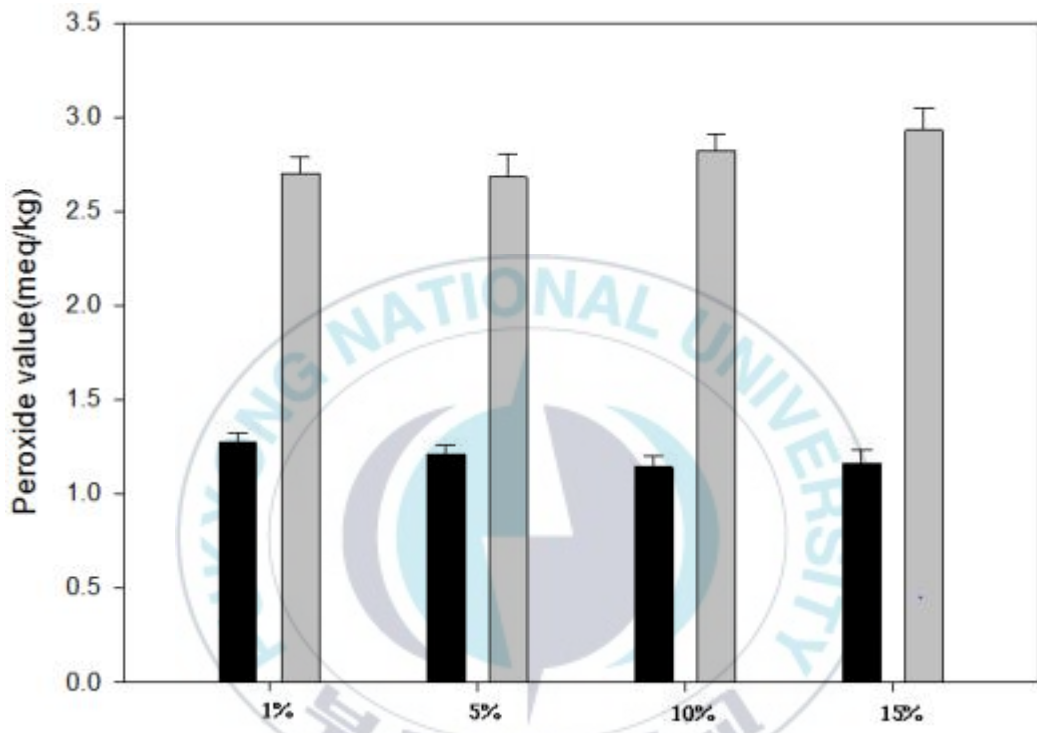


Fig. 10. Changes of peroxide value by different concentration of activated charcoal in organic solvent and pressure-high temperature (■ : organic solvent method, ■ : pressure-high temperature method)

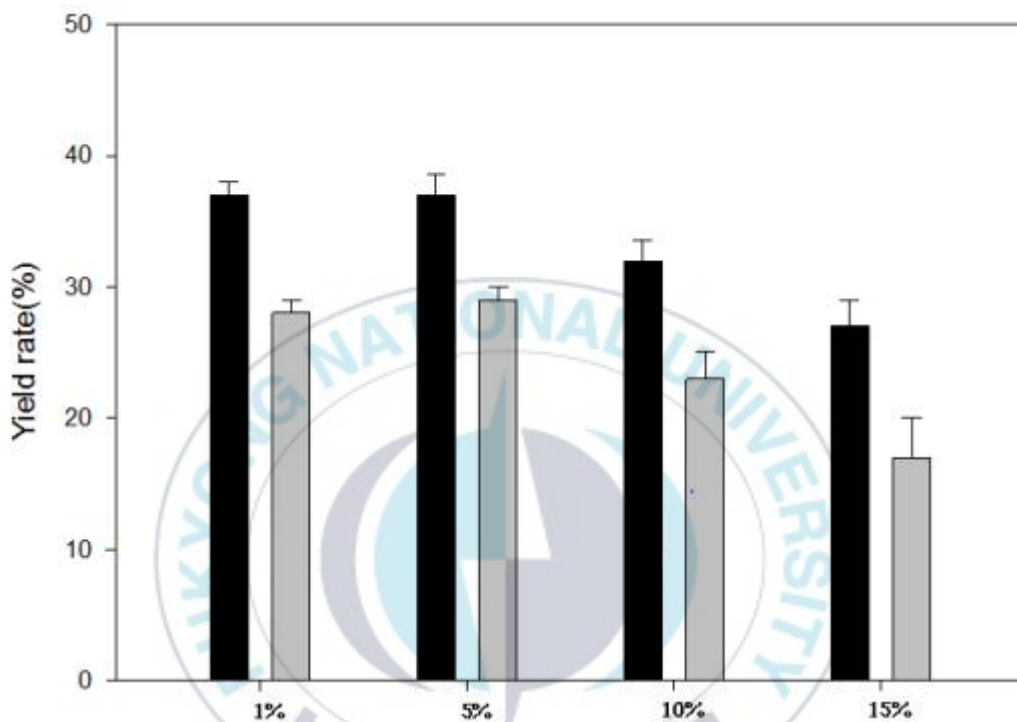


Fig. 11. Changes of yield rate by different concentration of activated charcoal in organic solvent and pressure-high temperature (■ : organic solvent method, ■ : pressure-high temperature method)

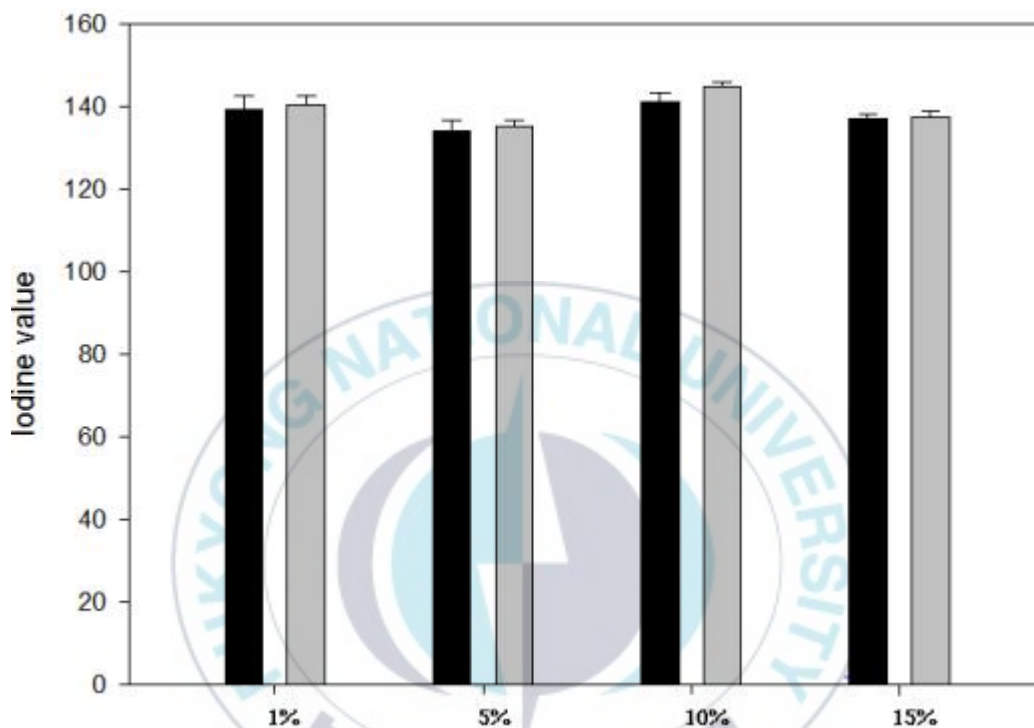


Fig. 12. Changes of iodine value by different concentration of activated charcoal in organic solvent and pressure-high temperature (■ : organic solvent method, ■ : pressure-high temperature method)

며 고등어의 경우 5% 활성탄 수용액을 사용하였을 경우 산가 0.18 mg/KOH/g이었으며 과산화물가의 경우 10% 수용액일 때 1.21 meq/kg으로 나타났다 (Kim, 2016). 요오드가의 경우 5% 수용액이었을 경우 수치가 가장 낮은 값을 보였으며 요오드가가 높으면 불포화지방산의 비율이 높으며 요오드가가 높은 유지는 용점이 낮고 이중결합이 많기 때문에 반응성이 풍부하고 산화되기 쉬운 반면에 요오드가가 낮은 유지는 용점이 낮고 산화안정성이 좋으므로 5% 활성탄 수용액이 최적의 탈색 공정임을 확인을 한 후 다음 공정을 진행하였다. 또한 각 정제 과정에 대한 색도변화를 Table 10, Fig. 13에 나타내었으며 L 값은 밝기를 나타내며 높아질수록 흰색을 띄기 때문에 정제과정을 거친 후의 유기용매의 경우 54.05이며 증자압착법의 경우 51.3로 밝은 수치를 나타내었으며 a 값은 양수이면 빨강 혹은 보라색에 치우치며 음수일 경우 초록색으로 치우친다. a 값의 경우 정제과정을 거친 후 유기용매의 경우 -2.59이며 증자압착법의 경우 -3.34로 초록색의 경향을 보였으며 b의 경우 음수이면 파랑 양수이면 노란색을 띄며 정제과정을 거친 후 유기용매의 경우 +8.92이며 증자압착법의 경우 +8.98로 수치가 보였다.

## 5. 탈취 조건에 따른 설정 및 성상의 변화

탈취 조건에 따른 설정 및 성상의 변화에 대한 결과값은 Table 11에 나타내었다. 유기용매 추출법을 이용한 홍어 간유의 경우 죽초액을 이용한 탈취공정을 진행하지 않았을 시 35 ppm으로 높은 수치를 보였으며 농도가 높을수록 감소하는 경향을 보였으며 7% 농도로 처리를 했을 시 1 ppm으로 거의 암모니아가 미검출 된 것을 확인할 수 있었으며 증자압착법을 이용한 홍어 간유 역시 원료유지에서는 46 ppm으로 높은 수치를 볼 수 있었지만 농도를 높일수록 감소하다가 7% 농도일 때 4 ppm으로 상당히 낮은 수치를 보였으며 상당한 수치의 악취가 제거되어 유지로의 사용이 적합하다고 판단되었다.

Table 10. Changes of chromaticity after purification process in pressure-high temperature and organic solvent

	Raw oil	Degumming	Deacidification	Decolorization
<b>Organic solvent method</b>	L : 40.76±0.03 <sup>d</sup> a : +15.69±0.06 <sup>a</sup> b : +24.58±3.94 <sup>a</sup>	L : 41.9±3.01 <sup>c</sup> a : +13.84±0.04 <sup>b</sup> b : +24.17±4.38 <sup>b</sup>	L : 42.74±0.09 <sup>b</sup> a : +0.06±0.03 <sup>c</sup> b : +22.79±3.96 <sup>c</sup>	L : 54.05±0.04 <sup>a</sup> a : -2.59±0.01 <sup>d</sup> b : +8.92±0.9 <sup>d</sup>
<b>Pressure-high temperature method</b>	L : 39.19±2.36 <sup>c</sup> a : +8.48±1.03 <sup>a</sup> b : +24.58±3.94 <sup>a</sup>	L : 39.75±2.63 <sup>c</sup> a : +8.36±1.03 <sup>a</sup> b : +24.17±4.38 <sup>b</sup>	L : 43.99±3.1 <sup>b</sup> a : +1.50±0.25 <sup>b</sup> b : +22.79±3.96 <sup>c</sup>	L : 51.3±1.82 <sup>a</sup> a : -3.34±0.23 <sup>c</sup> b : +8.98±0.85 <sup>d</sup>

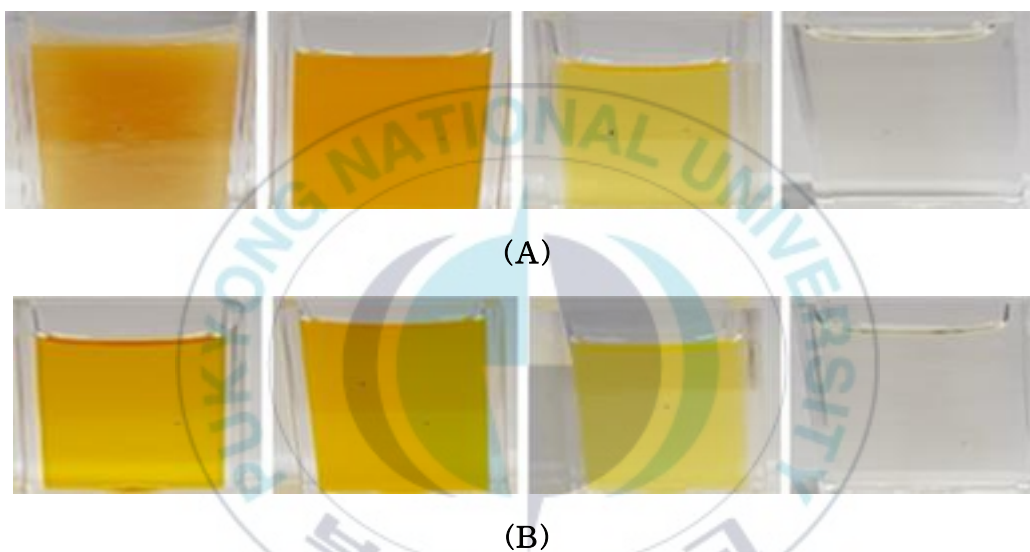


Fig. 13. Changes of chromaticity after purification process in pressure-high temperature and organic solvent

(A) pressure-high temperature method, (B) organic solvent method

Table 11. Changes of ammonia by different concentration of bamboo smoke distillate in organic solvent and pressure-high temperature

Ammonia (ppm)	Concent of bamboo smoke distillate				
	Raw oil	1%	3%	5%	7%
Organic solvent method	35±1.20 <sup>a</sup>	19±1.50 <sup>b</sup>	6±0.60 <sup>c</sup>	3±0.46 <sup>d</sup>	1±0.31 <sup>e</sup>
Pressure-high tempertaure method	46±0.90 <sup>a</sup>	28±0.71 <sup>b</sup>	18±0.57 <sup>c</sup>	6±0.56 <sup>d</sup>	4±0.25 <sup>e</sup>

## 6. 정제에 따른 지방산 조성의 변화

증자압착법과 유기용매 추출법으로 인한 정제과정의 지방산 조성은 Table 12, Table 13에 나타내었으며 증자압착법의 경우 원료유지의 EPA, DHA 함량은 235.65 mg/g이며 탈검 후 지방산 조성은 250.188 mg/g의 함량으로 탈검 공정을 거친 후 불포화지방산이 상승한 것을 볼 수 있었다. 또한 탈산 과정 후 281.184 mg/g의 불포화 지방산을 나타내었으며 최종적으로 탈색 과정을 거친 후 291.754 mg/g의 불포화 지방산을 나타내었다.

유기용매 추출법의 경우 원료유지의 EPA, DHA 함량은 219.586 mg/g이며 탈검 후 지방산 조성은 273.895 mg/g의 함량으로 탈검 공정을 거친 후 불포화지방산이 상승한 것을 볼 수 있었다. 또한 탈산 과정 후 276.615 mg/g의 불포화 지방산을 나타내었으며 최종적으로 탈색 과정을 거친 후 282.046 mg/g의 불포화 지방산을 나타내었다. 고등어의 경우 195.95 mg/g으로 월등히 높은 수치를 보였다(Kim, 2016).

## 7. 냉침에 따른 지방산 함량 변화

탈색 후와 냉침 후의 DHA와 EPA의 함량은 Table 14, Table 15에 나타내었다. 유기용매 추출법의 탈색유에 대한 저온결정화를 하기 전 불포화지방산의 함량은 282.046 mg/g을 나타내었고 저온결정화를 한 후에는 316.444 mg/g으로 결정화를 통해 34.398 mg/g이 증가하였음을 볼 수 있었고, 증자압착법의 탈색유에 대한 저온결정화를 하기 전 불포화지방산의 함량은 291.754 mg/g을 나타내었고, 저온결정화를 한 후에는 310.279 mg/g으로 결정화를 통해 18.525 mg/g이 증가하였음을 나타내었다.

이는 국내 기능성 식품 소재 중 어류의 유지를 사용한 오메가-3 지방산 함유 유지의 기준인 180 mg/g 이상의 수치를 보였으며 Codex(2013)의

Table 12. DHA and EPA concentration after purification process and low temperature crystallization to gas chromatography in organic solvent

Target compound		Concentration (mg/g)	Sum of EPA and DHA (mg/g)
Raw oil	EPA	32.363±0.99 <sup>c</sup>	219.586±0.79 <sup>b</sup>
	DHA	187.223±0.81 <sup>d</sup>	
After degumming	EPA	39.508±0.88 <sup>b</sup>	273.895±0.94 <sup>a</sup>
	DHA	234.387±1.13 <sup>c</sup>	
After deacidification	EPA	40.011±0.56 <sup>ab</sup>	276.615±1.26 <sup>a</sup>
	DHA	236.604±0.75 <sup>b</sup>	
After decolorization	EPA	41.201±1.01 <sup>a</sup>	282.046±1.10 <sup>a</sup>
	DHA	240.845±1.04 <sup>a</sup>	

Table 13. DHA and EPA concentration after purification process and low temperature crystallization to gas chromatography in pressure-high temperature

Target compound	Concentration (mg/g)	Sum of EPA and DHA (mg/g)
Raw oil	EPA	36.595±0.71 <sup>c</sup>
	DHA	199.055±1.11 <sup>d</sup>
After degumming	EPA	39.176±0.99 <sup>b</sup>
	DHA	211.012±0.86 <sup>c</sup>
After deacidification	EPA	43.313±0.79 <sup>a</sup>
	DHA	237.871±0.65 <sup>b</sup>
After decolorization	EPA	44.321±0.39 <sup>a</sup>
	DHA	247.433±1.43 <sup>a</sup>

Table 14. DHA and EPA concentration after decolorization oil and low temperature crystallization to gas chromatography in organic solvent

Target compound	Concentration (mg/g)	Sum of EPA and DHA (mg/g)
After decolorization	EPA	282.046±0.59 <sup>b</sup>
	DHA	
After crystalization	EPA	316.444±1.08 <sup>a</sup>
	DHA	

Table 15. DHA and EPA concentration after decolorization oil and low temperature crystallization to gas chromatography in pressure-high temperature

Target compound		Concentration (mg/g)	Sum of EPA and DHA (mg/g)
After decolorization	EPA	44.321±0.92 <sup>b</sup>	291.754±0.58 <sup>b</sup>
	DHA	247.433±0.64 <sup>b</sup>	
After crystalization	EPA	49.337±1.07 <sup>a</sup>	310.279±1.06 <sup>a</sup>
	DHA	260.942±0.8 <sup>a</sup>	

concentrated fish oil 기준인 40~60%를 미치지지는 못하였지만 홍어 간유의 경우 부산물인 점을 감안하면 기능성 유지 소재로의 사용이 우수하다고 판단되어진다.

## 8. 산화방지제 처리로 인한 저장성 변화

유기용매 추출법과 증자압착법으로 추출한 탈취유에 산화방지제인 catechin 처리에 따른 산가, 과산화물가, TBA가 변화를 Table 16, Table 17, Fig. 14, Fig. 15, Fig. 16, Fig. 17, Fig. 18, Fig. 19에 나타내었다. 유기용매 추출법을 이용한 탈취유의 경우 초기 산가의 수치는 0.05 mgKOH/g, 과산화물가 1.21 meq/kg, TBA가 125.416 mg/kg이며 산화방지제 처리 후 96 h 지나고 나서 산가 0.71 mgKOH/g, 과산화물가 2.39 meq/kg, TBA가 142.744 mg/kg 으로 산가는 0.66 mgKOH/g, 과산화물가 1.18 meq/kg, TBA가 17.328 mg/kg 증가 한 것을 볼 수 있었다. 반면에 산화방지제를 처리하지 않았을 경우 96 h 지난 후에 산가 6.59 mgKOH/g, 과산화물가 15.78 meq/kg, TBA가 189.312 mg/kg으로 산가는 6.54 mgKOH/g, 과산화물가 14.57 meq/kg, TBA가 63.896 mg/kg 증가한 것을 볼 수 있었고 결과적으로 산화방지제를 처리하기 전과 후를 비교하였을 때 산가의 경우 5.88 mg KOH/g, 과산화물가 13.39 meq/kg, TBA가 46.568 mg/kg 차이가 나타난 것을 볼 수 있었다.

증자압착법을 이용한 탈취유의 경우 초기 산가의 수치는 0.05 mgKOH/g, 과산화물가 2.68 meq/kg, TBA가 123.708 mg/kg이며 산화방지제 처리 후 96 h 지나고 나서 산가 1.65 mgKOH/g, 과산화물가 4.74 meq/kg, TBA가 147.295 mg/kg으로 산가는 1.6 mgKOH/g, 과산화물가 2.06 meq/kg, TBA가 23.578 mg/kg이 증가한 것을 볼 수 있었으며, 반면에 산화방지제를 처리하지 않았을 경우 96 h 지난 후에 산가 7.76 mgKOH/g, 과산화물가 16.40 meq/kg, TBA가 190.208 mg/kg으로 산가는 7.71 mgKOH/g, 과산화물가

Table 16. Changes of acid value, peroxide value, thiobarbituric acid value affected by different time of catechin in organic solvent

		0h	24h	48h	72h	96h
With catechin	Acid value (mg KOH/g)	0.05 ±0.01 <sup>ab</sup>	0.16 ±0.02 <sup>b</sup>	0.28 ±0.04 <sup>ab</sup>	0.39 ±0.02 <sup>ab</sup>	0.41 ±0.02 <sup>a</sup>
	Peroxide value (meq/kg)	1.21 ±0.03 <sup>d</sup>	1.42 ±0.05 <sup>c</sup>	1.75 ±0.06 <sup>b</sup>	2.14 ±0.05 <sup>a</sup>	2.19 ±0.05 <sup>a</sup>
	Thiobarbituric acid value (mg/kg)	125.41 ±1.8 <sup>d</sup>	127.07 ±2.8 <sup>cd</sup>	130.53 ±1.47 <sup>c</sup>	137.00 ±2.5 <sup>b</sup>	142.74 ±2.16 <sup>a</sup>
Without catechin	Acid value (mg KOH/g)	0.05 ±0.01 <sup>e</sup>	0.75 ±0.05 <sup>d</sup>	3.49 ±0.1 <sup>c</sup>	5.08 ±0.07 <sup>b</sup>	6.59 ±0.16 <sup>a</sup>
	Peroxide value (meq/kg)	1.21 ±0.02 <sup>e</sup>	5.32 ±0.10 <sup>d</sup>	10.15 ±0.08 <sup>c</sup>	13.29 ±0.09 <sup>b</sup>	15.78 ±0.14 <sup>a</sup>
	Thiobarbituric acid value (mg/kg)	125.42 ±1.80 <sup>e</sup>	145.64 ±1.53 <sup>d</sup>	167.28 ±4.07 <sup>c</sup>	180.30 ±2.01 <sup>b</sup>	189.31 ±2.13 <sup>a</sup>

Table 17. Changes of acid value, peroxide value, thiobarbituric acid value affected by different time of catechin in pressure-high temperature

		0h	24h	48h	72h	96h
Treated catechin	Acid value (mg KOH/g)	0.05 ±0.01 <sup>c</sup>	0.11 ±0.03 <sup>b</sup>	0.16 ±0.04 <sup>b</sup>	0.23 ±0.05 <sup>a</sup>	0.26 ±0.03 <sup>a</sup>
	Peroxide value (meq/kg)	2.68 ±0.05 <sup>c</sup>	2.69 ±0.05 <sup>bc</sup>	2.73 ±0.02 <sup>abc</sup>	2.76 ±0.05 <sup>ab</sup>	2.80 ±0.06 <sup>a</sup>
	Thiobarbituric acid value (mg/kg)	123.71 ±1.96 <sup>d</sup>	129.03 ±2.14 <sup>c</sup>	131.42 ±0.94 <sup>bc</sup>	134.66 ±3.02 <sup>b</sup>	147.30 ±2.93 <sup>a</sup>
Untreated catechin	Acid value (mg KOH/g)	0.05 ±0.01 <sup>e</sup>	0.64 ±0.04 <sup>d</sup>	3.98 ±0.07 <sup>c</sup>	6.11 ±0.11 <sup>b</sup>	7.76 ±0.10 <sup>a</sup>
	Peroxide value (meq/kg)	2.68 ±0.05 <sup>e</sup>	4.94 ±0.09 <sup>d</sup>	9.76 ±0.11 <sup>c</sup>	14.49 ±0.05 <sup>b</sup>	16.40 ±0.11 <sup>a</sup>
	Thiobarbituric acid value (mg/kg)	123.71 ±1.96 <sup>e</sup>	144.61 ±4.08 <sup>d</sup>	168.41 ±3.50 <sup>c</sup>	183.53 ±0.89 <sup>b</sup>	190.2 ±1.37 <sup>a</sup>

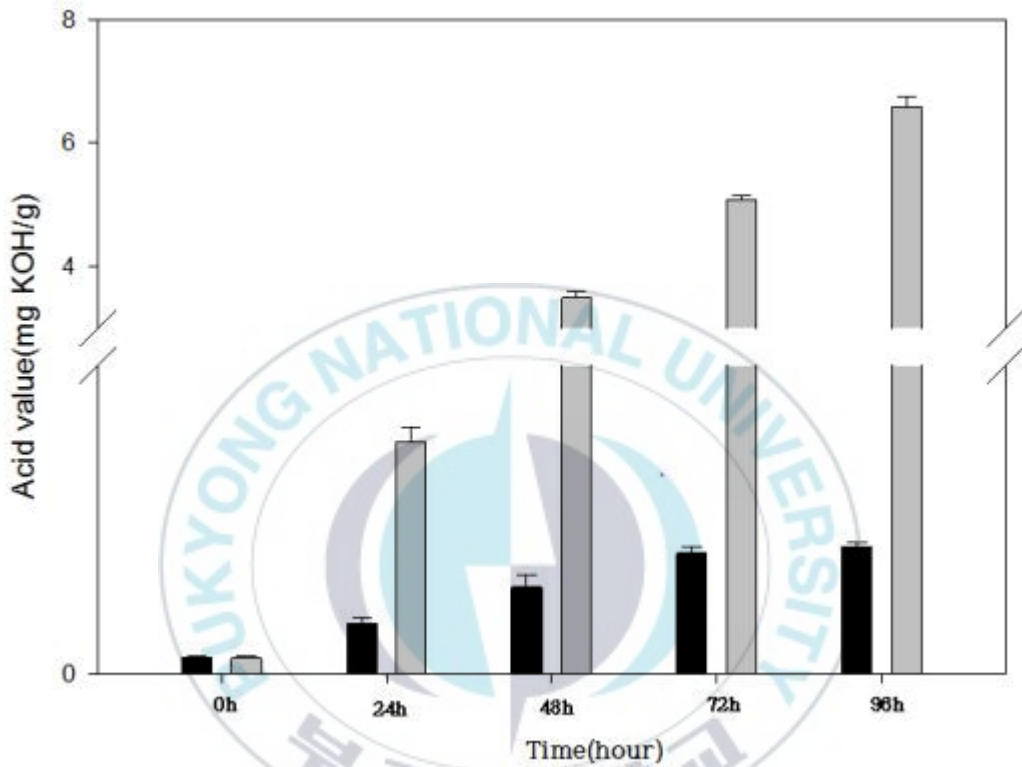


Fig. 14. Changes of acid value on oil using organic solvent method depend on storage time.

( : with catechin,  : without catechin)

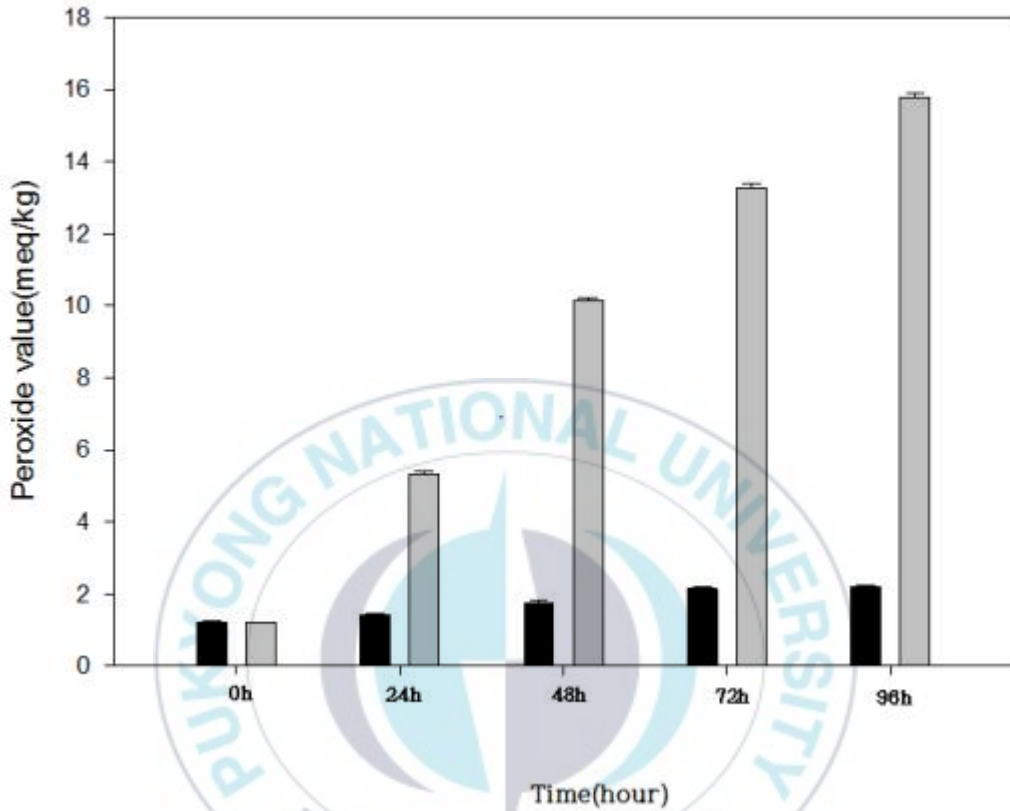


Fig. 15. Changes of peroxide value on oil using organic solvent method depend on storage time.

( : with catechin,  : without catechin)

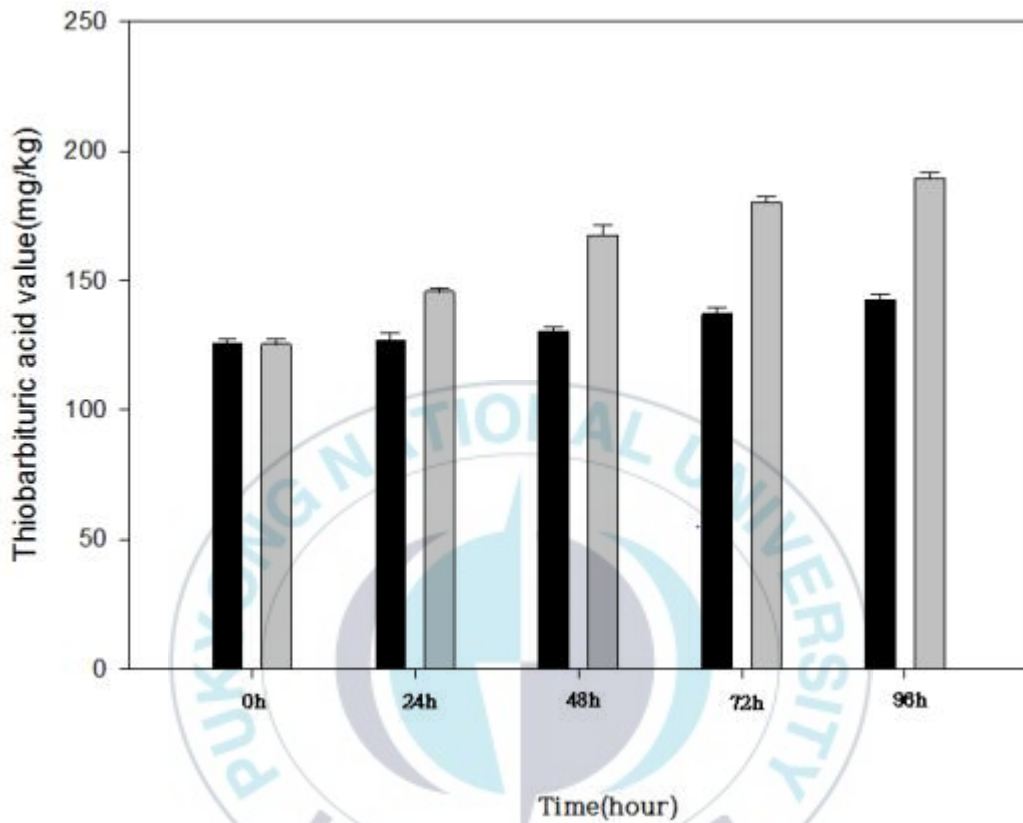


Fig. 16. Changes of thiobarbituric acid value on oil using organic solvent method depend on storage time. (■ : with catechin, □ : without catechin)

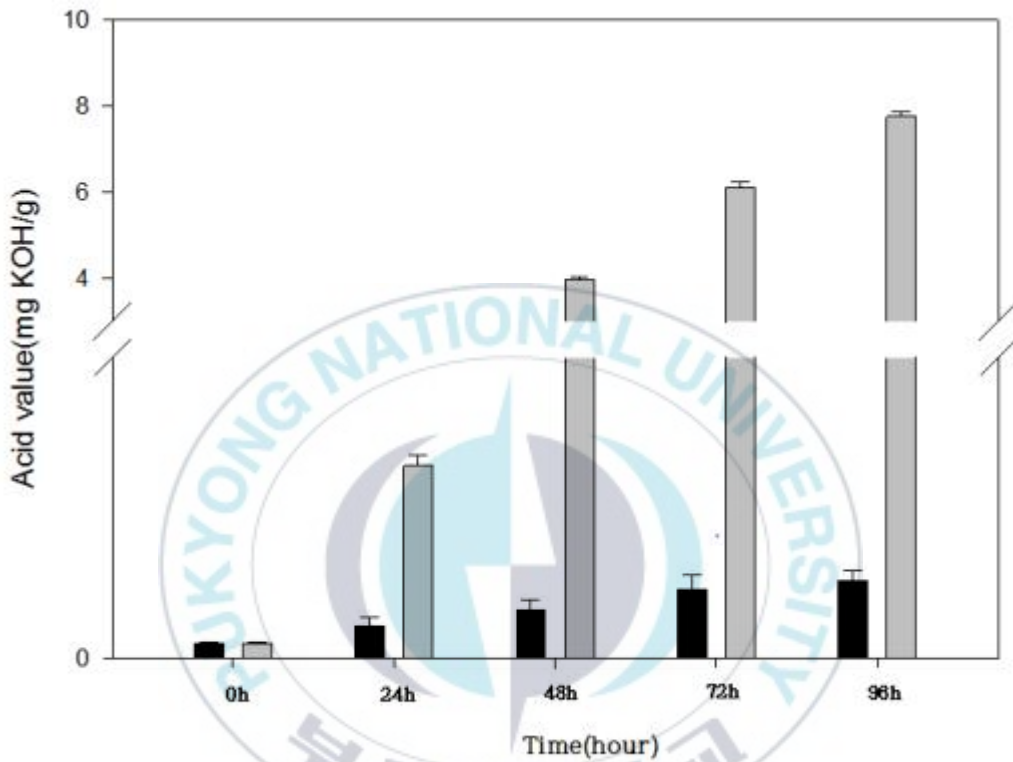


Fig. 17. Changes of acid value on oil using pressure-high temperature method depend on storage time.

( : with catechin,  : without catechin)

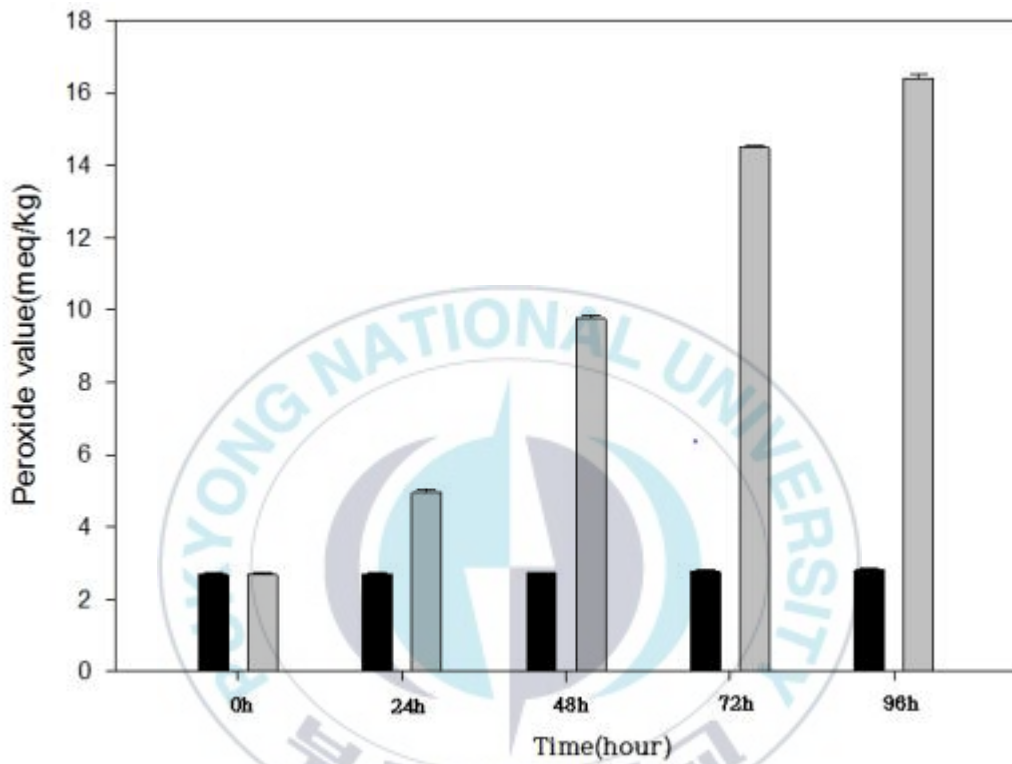


Fig. 18. Changes of peroxide value on oil using pressure-high temperature method depend on storage time.

( : with catechin,  : without catechin)

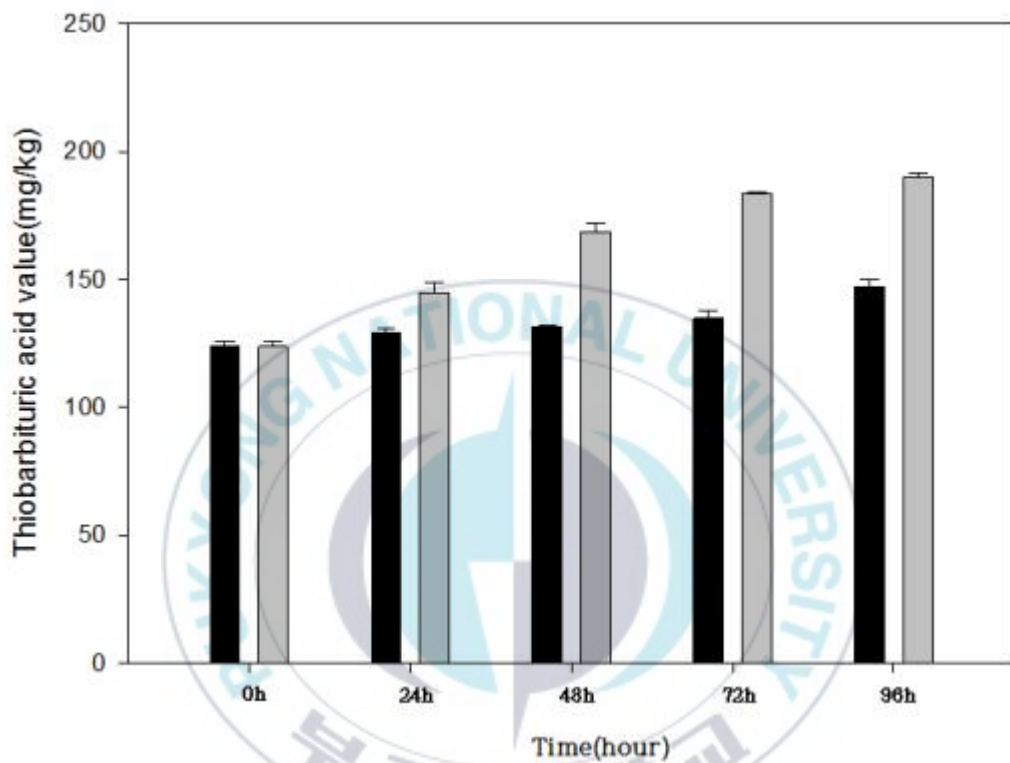


Fig. 19. Changes of thiobarbituric acid value on oil using pressure-high temperature method depend on storage time.

( : with catechin,  : without catechin)

13.72 meq/kg, TBA가 42.913 mg/kg이 증가한 것을 볼 수 있었고 결과적으로 산화방지제를 처리하기 전과 후를 비교하였을 때 산가의 경우 6.11 mgKOH/g, 과산화물가 11.66 meq/kg, TBA가 42.913 mg/kg의 차이가 나타난 것을 볼 수 있었다. 결론적으로 산화방지제인 catechin을 처리했을 경우 유지의 산패를 지연시킬 수 있다는 것으로 판단되었다.



## IV. 요약

본 연구에서는 홍어 간을 이용하여 유지를 추출한 후 각 단계의 정제 조건을 확립하고 오메가-3 지방산 중 EPA와 DHA 함량을 알아보고 기능성 유지로서의 활용 가능성을 알아보았다. 유기용매 추출법을 이용하여 홍어 간의 유지를 추출하였을 때 1 kg 기준으로 평균적으로 44%의 높은 수율을 보였고, 증자압착법의 경우 25% 함량을 보였다. 유화성이 강하고 수율을 낮추며 색을 어둡게 만드는 검질이나 인지질을 제거하기 위하여 citric acid 수용액과 반응을 시켜 탈검 공정을 하였다. 유기용매로 추출한 유지에 citric acid 수용액 6% 농도로 처리하였을 때, 인의 함량은 89.78 mg/kg에서 0.24 mg/kg으로 감소하였음을 확인하였고, 증자압착법으로 추출한 유지에 6% 농도로 처리 하였을 경우 인 함량이 87.76 mg/kg에서 0.398 mg/kg 감소한 것을 볼 수 있었다. 또한 가공유지의 산가와 과산화물가의 기준규격은 각각 0.6 mgKOH/g, 3.0 meq/kg 이었지만(식품공전) 증자압착법의 경우 원료유지의 산가 수치는 10.26 mgKOH/g이며 과산화물가의 수치는 4.97 meq/kg이었으며 유기용매 추출법 역시 산가 수치 5.84 meq/kg, 과산화물가 수치 6.43 meq/kg으로 높은 수치를 보였다. 탈산 공정에서 유기용매 추출법을 이용한 탈검유에 4% 수산화나트륨 수용액을 처리했을 때 산가 0.18 mgKOH/g, 과산화물가 1.37 meq/kg, 수율 83%로 최적의 탈산 조건을 확립할 수 있었으며, 마찬가지로 증자압착법으로 탈산 공정을 진행했을 때 4% 수산화나트륨 수용액에서 산가 0.12 mgKOH/g, 과산화물가 2.76 meq/kg, 수율 85%로 최적의 조건을 확립할 수 있었다.

탈색 공정의 경우 유기용매 추출법을 이용한 탈산유에 5% 활성탄 수용액으로 처리 했을 때 산가 0.05 mgKOH/g, 과산화물가 1.21 meq/kg, 수율 37%, 요오드가 134.2 로 최적의 탈색 공정을 확립할 수 있었으며, 마찬가지로

로 증자압착법을 이용한 탈산유에 5% 활성탄 수용액을 처리했을 시 산가 0.05 mgKOH/g, 과산화물가 2.68 meq/kg, 수율 29%, 요오드가 135.42로 최적의 탈색 공정을 확립할 수 있었다.

각각의 정제유지에 관한 색도 변화는 증자압착법의 경우 원료 유지에서 L : 39.19, a : +8.48, b : +24.58 이었으며 정제 과정을 다 거친 후의 탈색 공정에는 L : 51.3, a : -3.34, b : +8.98으로 나타났으며 유기용매 추출법의 경우 원료 유지에서 L : 40.76, a : +15.69, b : +24.58 이었으며 정제 과정을 다 거친 후의 탈색 공정에는 L : 54.05, a : -2.59, b : +8.98로 나타났다. 이 결과를 보아 정제 과정을 거칠수록 L 값은 흰색을 띄는 경향을 보이며 a 값은 점점 초록색을 띄며 b 값은 노란색을 띄는 경향을 나타냈다.

탈취 공정의 경우 유기용매 추출법과 증자압착법의 원료 유지에서 각각 35 ppm, 46 ppm의 수치를 보였으며 탈취제인 죽초액을 이용하여 7% 농도로 처리했을 시 각각 1 ppm, 4 ppm으로 상당히 낮은 수치를 보였다.

홍어 간유의 지방산 조성은 증자압착법의 경우 원료유지의 EPA와 DHA의 함량은 각각 36.595 mg/g, 199.055 mg/g 이었으며 유기용매 추출법의 원료유지의 EPA와 DHA 함량은 각각 32.363 mg/g, 187.223 mg/g의 함량을 나타내었다. 최종적으로 두가지 추출방법의 간유로 정제과정을 마친 후의 불포화 지방산의 함량은 증자압착법의 경우 EPA는 44.321 mg/g, DHA는 247.433 mg/g으로 높은 수치를 보였으며 유기용매 추출법의 경우 역시 EPA는 41.201 mg/g, DHA는 240.845 mg/g 으로 높은 함량의 불포화지방산이 검출되었다. 포화지방산을 감소시키고 오메가-3 지방산의 조성을 증가시키는 저온결정화 실험을 진행한 결과 증자압착법의 경우 EPA는 49.337 mg/g, DHA는 260.942 mg/g으로 전체적으로 약 18.525 mg/g의 불포화지방산이 증가하였고 유기용매 추출법의 경우 EPA는 51.632 mg/g, DHA는 264.812 mg/g으로 전체적으로 약 34.398 mg/g의 불포화지방산이 증가하였고, 결과적으로 홍

어 간유를 이용하여 기능성 유지로서의 개발이 우수하다고 판단되어진다.

증자압착법과 유기용매 추출법의 정제 과정을 마친 유지에 산화방지제인 catechin을 첨가한 결과 유기용매 추출법의 경우 초기 산가 0.05 mgKOH/g, 과산화물가 1.21 meq/kg, TBA가 125.416 mg/kg에서 96 h이 지난 후, 산가 0.41 mgKOH/g, 과산화물가 2.19 meq/kg, TBA가 142.744 mg/kg으로 큰 변화가 없는 것을 보였지만 산화방지제를 처리하지 않았을 경우에는 산가 6.59 mgKOH/g, 과산화물가 15.78 meq/kg, TBA가 189.312 mg/kg으로 산화방지제 처리 유무에 따라 변화의 차이가 많은 것을 확인하였다.

증자압착법의 경우 마찬가지로 초기 산가 수치는 0.05 mgKOH/g, 과산화물가 2.68 meq/kg, TBA가 123.708 mg/kg 이며 산화방지제를 넣은 후 96 h 지난 후의 산가 수치는 0.26 mgKOH/g, 과산화물가 2.80 meq/kg, TBA가 147.295 mg/kg으로 많은 변화가 이루어지지 않은 것을 볼 수 있으며 산화방지제를 처리하지 않았을 경우 산가 7.76 mgKOH/g, 과산화물가 16.40 meq/kg, TBA가 190.208 mg/kg 으로 유기용매 추출법과 같은 결과를 확인하였다.

## V. 참고문헌

- Aruoma, O.I. 1998. Free radicals, Oxidative stress, and Antioxidants in Human Health and Disease. *Journal of the american oil chemists' society*. 75. 199-212.
- AOAC, Official method of analysis 1985. 14th. Washinhton, D.C. P.489.
- Bligh, E. G and Dyer, W. J. 1959. A Rapid Method for Total Lipid Extraction and Purification. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 37. 911-917.
- Bajerska, J. Mildner-Szkudlarz, S. 2010. Catechin stability, Antioxidant Properties and Sensory Profiles of Rye Breads Fortified with Green tea Extracts. *Journal of Food and Nutrition Research*. 49. 104-111.
- Cho, H. S. and Kim, K.H. 2008. Quality Characteristics of Commercial Slices of Skate *Raja Kenojei*. *Journal of East Asian Society Dietary Life*. 18. 214-220.
- Gustone, F. D., Mclaughlan, J., Scrimgeour, C.M. and Watson, A. P. 1976. Improved procedures for the isolation of pure oleic, linoleic and li-noleic acids ir their methyl esters from natural sources. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 27. 675-680.
- Han, J. S. and Ahn, S. Y. 1993. Effects of Oil Refining Processes on Oil Characteristics and Oxidation Stability of Sesame Oil, *Journal of*

Korean Agriculture Chemical Society. 36. 284-289.

Han, H. T and Cha, Y. J. 2011. Shelf Life Extension of Non-Dairy Cream with the Addition of Natural Antioxidants. *Journal of the Korean Society of Food science and nutrition*. 40. 747-752.

Harris, W. S., Dariush, M., Eric, R., Penny, K. E., Lawrence, L. R., Lawrence, J. A., Marguerite, M. E., Mary, B. E. and Frank, S. 2009. Omega-6 Fatty acids and Risk for Cardiovascular Disease : A Science Advisory From the American Heart Association Nutrition Subcommittee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism; Council on Cardiovascular Nursing; and Council on Epidemiology and Prevention. *Journal of the American Heart Association*. 119. 902-907.

Huxtable, R. J. 1992. Physiological actions of taurine. *Physiological Reviews*. 72. 101-163.

Park, J. H. and Kim, C. S. 2002. Antioxidant Activity of Green Tea Extract in Soybean and Rice Bran Oils. *Journal of Food Science and Nutrition*. 7. 151-156.

KFDA, Food code. Korean Food and Drug Administration, Seoul. Korea. 2002.

Kang, K. H. and Jeong, K. S. 2012. Extraction Characteristics Antioxidative Effect and Preparation of Collagen Gel of Skate Skin Extracts. *Journal of academia-industrial technology*. 13. 5637-5645.

- Kwoon, G. W and Ahn, J. H. 2014. Ammonia Removal in Food Waste Compost Using Bamboo Smoke Distillate. *Journal of Korean Society of Environmental Engineers*. 36. 429-433.
- Kim, D. S. and Ahn, M. S. 1988. Degumming Effect on Vegetable oil of Degumming agent. *Korean Journal of Food and Cookery Science*. 4. 27-32.
- Kim, K. S. and Bae, T. J. 2003. Deodorization of fish oil using adsorption method. *Journal of Life Science*. 13. 365-373.
- Kris-Etherton, P. M., Harris, W. S. and Appel, L. J. 2002. Fish Consumption, Fish Oil, Omega-3 Fatty Acids, and Cardiovascular Disease. *Journal of the American Heart Association*. 160. 2747-2757.
- Kim, S. K. 2003. Development of Novel Bioactive Substances from Fishery Byproducts. *Food Industry and Nutrition*. 8. 1-8.
- Kim, D. Y. and Lee, J. S. 2015. Directions for Eco-friendly Utilization and Industrialization of Fishery By-products. *Journal of Fisheries and Marine Sciences Education*. 27. 566-575.
- Lim, H. S. 2003. ACE Inhibitory Materials from Raja Kenojei. *Journal of life science*. 13. 668-674.
- Lee, E. J., Seo, J. E., Lee, J. K., Oh, S. W., and Kim, Y. J. 2008. Microbial and Chemical Properties of Ready-to-eat Skate in Korean Market. *Journal of Food Hygiene and Safety*. 23. 137-141.

- Lauritzen, L., Hansen, H. S., Jorgensen, M. H. and Michaelsen, K. F. 2001. The essentiality of long chain n-3 fatty acids in relation to development and function of the brain and retina. *Progress in Lipid Research*. 40. 1-94.
- Lee, S. L., Heo, H. J. and Row, K. H. 2011. Physical Property and Extraction of Squalene and Alkoxyglycerol from Shark Liver Oil. *Korean Chemical Engineering Research*. 49. 617-622.
- Lee, M. S, Lee, S. H and Song, K. B. 2004. Effect of Various Natural Antioxidants on the Safflower Oil. *Korean Journal of Food Prevention*. 1. 126-129.
- Lee, H. C. 2005. Automatic Titration Using PC camera in Volatile Basic Nitrogen Analysis by Micro diffusion method. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*. 34. 135-137.
- Lee, K. G. and Kim, S. M. 2012. Quality Changes in Low-Salted Squid *Jeot-gal* during Fermentation and Determination of Shelf-life. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*. 41. 687-694.
- Lee, K. H., Jeong, I. H., Shu, J. S., You, B. J. and Ryuk, J. H. 1988. Utilization of polyunsaturated lipids in red muscled fishes. 5. Addition of refined oil to fish meat paste and storage stability of polyunsaturated fatty acids. *Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 21. 239-245.

Moon, Y. H., Kim, M. S. and Jung, I. C. 2000. Effects of Freezing Period and Rechilling process after Thawing on Fatty Acid Composition and TBA Value of Beef Loin. Korean Journal for Food Science of Animal Resources. 20. 288-295.

Park, J. C., Lee, B. I. and Kwon, O. N. 2011. Effect on Enrichment with *Schizochytrium* sp. and Squid *Todarodes pacificus* Liver Oil on Fatty Acid Content of Live Feed. Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 44. 339-334.



## VI. 감사의 글

석사과정 동안 학문적인 지식과 많은 사랑과 관심으로 지도해주시고 이끌어주신 양지영 교수님께 감사의 말씀 드립니다.

논문발표와 심사과정 중 조언을 아끼지 않으시고 세밀한 부분까지 교열해주신 이양봉 교수님과 김영목 교수님께 진심으로 감사드립니다. 그리고 많은 지도와 가르침으로 이끌어주신 조영제 교수님, 전병수 교수님, 김선봉 교수님, 안동현 교수님께도 깊은 감사를 드립니다.

수산가공실험실에서 학부생때 많은 도움을 준 현진이 누나, 병조형, 상원이 형, 경오형, 선규형, 가람이, 중훈이, 성규, 평환이, 소현이 에게도 학부생이었을 때 힘들어도 많은 도움을 주며 감사의 말을 전합니다.

발효공학실험실에서 석사를 할 때 누구보다 많은 도움을 주고 스트레스를 받았을 지영이 누나, 동기지만 무서운 윤지, 어시장 지인이, 다이어터 지은이, 헬스트레이너 준호, 착하지만 빼돌이 진우, 착하고 귀여운 범돌기 범희, 막둥이 현석이, 사회생활 다혜, 항상 옆에 투덜거리는 재연이 다들 힘든 석사 생활 동안 많은 힘이 되었고 좋은 힘들고, 즐겁고 모든 일이 다 추억이 되었습니다. 정말 감사하다는 말을 전하고 싶습니다. 대학 다니는 동안 잘 적응할 수 있도록 도와준 학교 동생들과 세훈이, 성천이형한테도 진심으로 감사하다는 말을 전하고 싶습니다. 그리고 항상 힘이 들 때 옆에서 묵묵하게 있어준 효정이에게도 감사합니다.

마지막으로 지금까지 대학교 다니는 동안 뒷바라지 해주시고 항상 걱정해주시고 항상 무엇을 하든 믿어주시고 챙겨주신 어머니, 아버지, 이모께 감사하다고 전하고 싶습니다. 이렇게 항상 감사한 마음으로 후회없고 부끄럼 없는 노력하는 사람이 되겠습니다.