

에스테르 교환반응과 흡착제를 이용한 오징어 내장유의 품질 개선

노명균 · Salim Uddin · 전병수*

부경대학교 식품공학과

Study for Improving Properties of Squid Viscera Oil Using Transesterification and Adsorption. Myong-kyun Roh, Salim Uddin, Byung-Soo Chun*. *Institute of Food Sciences, Faculty of Food Science & Biotechnology, Pukyong National University, Busan, Korea*

Abstract Squid viscera oil was investigated by pretreatment method for enhancing the commercial value. Transesterification was performed to reduce rancidity of the oil, off-flavor was removed by using activated carbon adsorption. Analysis using ATD (Automatic Thermal Desorber) and GC/MG shows the efficacy of off-flavor removal. The rates of Transesterification employing inorganic catalyst and biocatalyst were tested, respectively. With stepwise addition of ethanol, the most efficiency of the reaction was achieved by inorganic catalyst. The efficiency of the reaction was estimated by acid value corresponding to rancidity of reaction product.

Key words : Squid viscera oil, transesterification, free fatty acid, pretreatment method, off-flavor

서 론

오징어는 대중적인 식품이며 동남아시아 및 세계 여러 지역에서 다양한 경로를 거쳐 식품으로 활용되고 [4] 있지만 수산물의 가공 시 발생하는 부산물은 원료의 약 40%이상에 이르고 있으며, 수산 가공 부산물 중 폐기물로 버려지는 가공 부산물인 오징어 간유에는 특별히 n3계 지방산인 EPA (20:5), DHA (22:6) 등의 고도불포화지방산의 함량이 매우 높다고 보고 되고 있으며, 일반적으로 어유는 대부분의 식물 유지와는 다르게 대기 중 산소와 산화적 반응을 일으켜 쉽게 산패 되는데 이는 어유에 함유된 고도불포화지방산의 함량이 매우 높기 때문이다. 특히, 오징어 간유에 함유되어 있는 고도불포화지방산인 n3계 지방산은 노화 방지, 면역반응, 혈전증, 동맥경화증, 염증등을 개선 시키는데 중요한 역할을 한다고 보고 되고 있다 [1-3,6,7,9].

오징어에 함유된 고도불포화지방산은 원재료 또는 의약품으로써 오징어간유의 활용 방안에 대한 관심이 높아 지고 있지만 지질 산화를 방지 하기 위해

적절하고 안전한 산화 방지제가 사용 되어야 하므로 기존의 탈산 제거 과정을 대체 할 수 있는 새로운 정제법의 개발이 필요하다.

에스테르 교환 반응은 유지 중 높은 함량의 유리 지방산 (free fatty acid) 을 지방산 에틸 에스터 형태로 전환 시킬 수 있으므로 [5], 유지의 기능성 및 안정성을 크게 높일 수 있을 뿐만 아니라 에스테르 교환 반응을 통해 트리글리세라이드 (triglyceride) 를 디글리세라이드 (diglyceride), 모노글리세라이드 (monoglyceride) 및 글리세라이드 (Glyceride) 등으로 각 각 분해하게 된다. 이때, 생성된 분해산물들은 기존의 트리글리세라이드 형태의 지질류와는 다르게 다이어트 식품 첨가제 및 유화제 그리고 화학공업 산업의 원료로 이용이 가능하다.

따라서 본 연구에서는 에스테르 교환 반응에 생촉매 및 무기촉매를 사용하여 오징어 내장유의 산화성 저해효과 및 흡착제를 이용하여 오징어 내장유의 휘발성 성분을 제거하기 위한 조건을 확립하고 그 결과를 생물산업의 기초 자료로 활용하고자 한다.

* Corresponding author

Phone: +82-51-620-5830, Fax: +82-51-622-9248

E-mail: bschun@pknu.ac.kr

재료 및 방법

시약 및 재료

본 실험에 사용된 진공 용출 추출 오징어 간유는 부산시 금정구 소재 하나산업 주식회사로부터 제공 받았으며, 수분함량은 0.25% (by Karl-fisher), 인지질 함량은 0.67%였다. 에탄올화 반응을 위한 효소는 Lipozyme TL-IM (*T. lanuginosa*, 250IUN/g)와 Lipozyme RM-IM (*R. miehei*, 150IUN/g)로 Novozyme A/S (Bagsvaerd, Denmark) 제품을 사용하였고, 무기 촉매로 NaOH와 H₂SO₄를 사용하였으며, Ethanol (anhydrous, Sigma)은 99.9%의 순도를 사용하였다. 오징어 간유의 이취 성분 제거 실험에 사용된 활성탄 (Junsei Chemical Co.,Ltd.)은 분말상의 특급 시약을 사용하였다.

생 촉매를 이용한 에탄올화 반응 실험

이번 연구에서는 에탄올화 반응을 이용하여 오징어 간유의 산가 감소를 진행 시켰다. 실험법은 Shimada등 [10]의 단계적 첨가법에 따라 3 몰 함량의 Ethanol을 3회로 나누어 1몰씩 첨가 하고, 고정화 효소로서 Lipozyme TL-IM과 Lipozyme RM-IM를 사용하였다. 즉, 오징어 간유 5g (약 5.6×10^{-3} mol)과 0.05g (1w%)의 고정화 효소 혼합물에 에탄올 0.33 ml (약 5.6×10^{-3} mol)를 30시간 동안 3번에 걸쳐 단계적 첨가를 하였다. 반응물은 Shaking Incubator (HB-201SL)를 사용하여 50℃에서 140 rpm의 속도로 혼합하였다. 에탄올의 단계적 첨가는 반응 시간 동안 주기적으로 산가법을 이용하여 산가를 측정 하였으며, 산가 감소가 저하되는 시점 마다 첨가하였다.

무기 촉매를 이용한 에탄올화 반응 실험

생 촉매를 이용한 에탄올화 반응 실험과 마찬가지로 Shimada등 [10]의 단계적 첨가법에 따라 3 몰 함량의 Ethanol을 3회로 나누어 1몰씩 첨가 하고, 무기 촉매로서 NaOH와 H₂SO₄를 사용하였다. 실험법은 오징어 내장유 5 g (약 5.6×10^{-3} mol)과 0.05 g (1w%)의 NaOH와 2.25M H₂SO₄로 나누어 혼합물을 만든 후 여기에 에탄올 0.33 ml (약 5.6×10^{-3} mol)를 30시간 동안 3번에 걸쳐 단계적 첨가를 하였다. 반응물은 Shaking Incubator (HB-201SL)를 사용하여 50℃에서

140 rpm의 속도로 혼합하였다. 에탄올의 단계적 첨가는 반응 시간 동안 주기적으로 산가법을 이용하여 산가를 측정 하였으며, 산가 감소가 저하되는 시점 마다 첨가하였다.

활성탄을 이용한 오징어 간유의 이취 제거

유리 지방산을 제거한 오징어 간유는 활성탄을 사용하여 이취 제거가 수행되었다. 실험은 산가 1이하의 오징어 간유 50 g에 1w%활성탄 (0.5 g)을 첨가 후 hot-plate (50℃) 상에서 magnetic bar를 이용하여 5시간 교반 하였다. 이후 활성탄을 처리한 오징어 간유는 0.45 μm filter를 사용하여 여과하였으며, 제거된 이취 성분의 동정을 위해VOCs 분석을 수행 하였다.

활성탄 처리 후 오징어 간유의 VOCs 분석

휘발성 성분의 동정을 위해 자동 열 탈착 시스템 (ATD; Automatic Thermal Desorber, ATD-400, Perkin Elmer, USA)와 GC/MS(HP 6890/QP 2010A, Shimadzu, Japan)를 이용했다. 시료 0.1 g을 500 mL 갈색병에 넣어 50℃ 건조기에서 30분 동안 휘발성 성분을 발생시킨 후 발생된 휘발성 성분을 흡착튜브(Tenax-TA)에 흡착시킨다. 이후 흡착튜브를 ATD에 장착해 휘발성 성분을 탈착 후 탈착된 휘발성 성분이 GC/MS 내로 도입되도록 했으며, GC/MS의 분석 조건은 Table 4와 같다.

결 과

생 촉매를 이용한 에탄올화 반응의 산가 변화

생 촉매를 이용한 에탄올화 반응의 산가(Acid Value) 변화는 산가가 유지 1 g중에 함유되어있는 유리 지방산을 중화하는데 필요한 수산화칼륨의 밀리그램 수를 의미함으로 지질 내에 존재하는 유리지방산의 양의 변화로 볼 수 있다. 이 연구에서 생 촉매를 이용한 오징어 간유의 에탄올화 반응 결과 Fig. 1에서와 같이 Lipozyme RM-IM이 Lipozyme TL-IM보다 산가를 더 감소시킴을 알 수 있었다. 또한 Lipozyme RM-IM이 에탄올의 단계적 첨가 반응에서 높은 반응 효율을 보였으며, Table 1에서와 같이 반응 시간 30 시간에서 산가 값을 약 5까지 낮출 수 있었다. 즉, 유리지

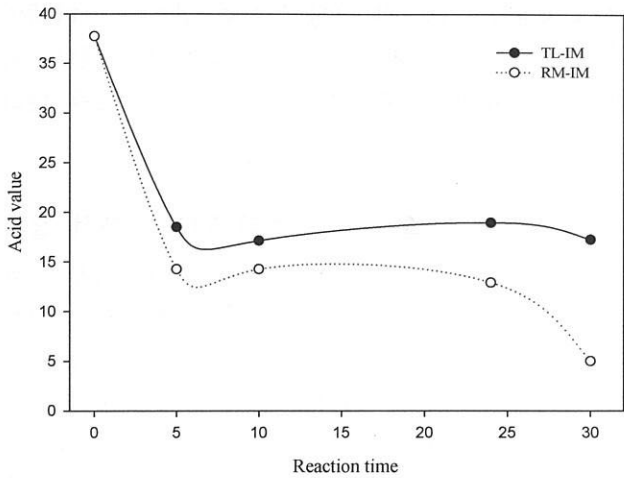


Fig. 1. Change of acid value during transesterification reaction of Squid viscera oil with Lipozyme TL-IM and Lipozyme RM-IM.

방산의 함량을 낮추기 위해서는 Lipozyme RM-IM이 Lipozyme TL-IM 보다 더욱더 유리하다고 할 수 있다. 또한 Lipozyme TL-IM의 경우 단계적 에탄올 첨가 반응에서 반응 10시간의 산가 값이 17.12였으나 24시간의 산가 값이 18.92로써 더욱 증가하였다. 이것은 Lipozyme TL-IM이 단계적 에탄올 첨가 과정에서 불활성 되었다고 사료된다. 결과적으로 오징어 간유에 존재하는 산패 원인 물질인 유리지방산을 제거하기 위하여 효소를 이용한 3단계 에탄올화 반응 시 Lipozyme RM-IM이 Lipozyme TL-IM보다 유리지방산의 제거 효율이 높게 나타났다.

무기 촉매를 이용한 에탄올화 반응의 산가 변화

오징어 간유에 존재하는 산패 원인 물질인 유리지방산을 제거하기 위하여 무기촉매를 이용한 에탄올화 반응은 염 촉매인 NaOH와 산 촉매인 H₂SO₄를

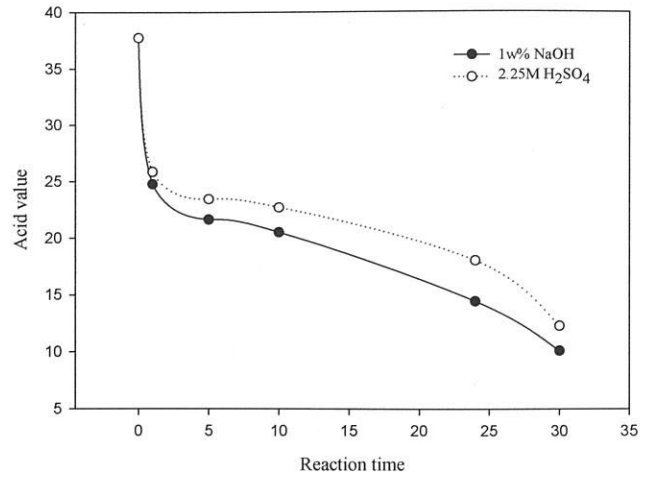


Fig. 2. Change of acid value during transesterification reaction of Squid viscera oil with 1w% NaOH and 2.25M H₂SO₄.

이용하였으며, 3단계 에탄올 첨가법 [10]으로 에탄올화 반응이 수행되었다. Fig. 2와 Table 2에서 보는 바와 같이 무기 촉매를 이용한 단계적 에탄올 첨가 반응을 통하여 유리지방산의 함량이 감소하면서 산가가 감소함을 알 수 있었다. 또한 NaOH가 H₂SO₄보다 에탄올의 단계적 첨가 반응에서 높은 반응 효율을 보였으며, Table 3에서와 같이 1w% NaOH를 이용한 1차 에탄올화 반응 후 2w% NaOH를 이용한 에탄올화 반응 시 산업적으로 이용 가능한 산가 1이하의 어유를 얻을 수 있었다. 또한 생 촉매인 Lipozyme TL-IM의 경우 단계적 에탄올 첨가 반응에서 반응

Table 3. Change of acid value during additive transesterification reaction of Squid viscera oil with 2w% NaOH

Inorganic catalyst	Reaction time	
	0 (h)	1 (h)
2w% NaOH	10.12	0.95

Table 1. Change of acid value during transesterification reaction of Squid viscera oil with Lipozyme TL-IM and Lipozyme RM-IM

Bio catalyst	Reaction time				
	0 (h)	5 (h)	10 (h)	24 (h)	30 (h)
Lipozyme TL-IM	37.74	18.5	17.125	18.9	17.2
Lipozyme RM-IM	37.74	14.25	14.25	12.89	5

Table 2. Change of acid value during transesterification reaction of Squid viscera oil with 1w% NaOH and 2.25M H₂SO₄

Inorganic catalyst	Reaction time					
	0 (h)	1 (h)	2 (h)	10 (h)	18 (h)	30 (h)
1w% NaOH	37.74	24.8	21.7	20.6	14.5	10.12
2.25M H ₂ SO ₄	37.74	25.9	23.5	22.8	18.1	12.32

Table 4. Analysis condition of VOCs (Volatile organic Compounds)

Parameter	Condition
ATD-400(Perkin Elmer, USA)	
Tube Type	Tenax-TA
2nd split ratio	7:1
1st desorption	320 °C(3min)
2nd desorption	340 °C(1min)
25t cryo temp	-30 °C
GC/MS(QP-2010, Shimadzu)	
	35 °C(10min)
Oven temp.	8 °C/min - 120 °C(10min)
	12 °C/min - 180 °C(7min)
	15 °C/min - 230 °C(10min)
Column	AT-1(60m×0.32m ×1.0 μ m)
Column flow	0.62 ml/min
Interface Temp.	250 °C
Mass Range	20~350m/z
Column Pressure	15.7psi
MS Det. Temp	250 °C
Carrier gas	He(99.9999%)

24시간의 산가 값이 더욱 증가하는 상반된 결과와는 달리, 무기 촉매를 이용한 에탄올화 반응의 산가 변화는 지속적인 감소를 나타내었으며, 이것은 L.C.

Meher등 [8]의 연구 보고와 유사한 경향을 나타내었다. 또한, 생 촉매 보다 무기 촉매를 이용한 에탄올화 반응에서 NaOH의 경우 더욱 높은 산가 감소를 나타내었다.

활성탄 처리 후 오징어 간유의 VOCs 분석 결과

오징어 간유를 활성탄을 이용하여 이취성분을 제거한 결과는 Fig. 3과 Fig. 4와 같다. 에스테르 교환 반응 후 오징어 간유에 활성탄처리를 한 시료와 처리 하지 않은 시료를 휘발성 물질 분석을 통해 비교 시 Fig. 4와 같이 피크의 수와 면적이 많이 감소된 것을 알 수 있었다. 그리고 그래프에 나타난 피크가 모두 이취 유발 물질로 볼 수 없으므로 주요한 냄새 물질을 동정한 결과는 Table 5와 같다.

고 찰

이번 연구에서 무기 촉매를 이용한 에스테르 교환 반응의 산가 변화는 지속적인 감소를 나타내었으며, 생 촉매 보다 무기 촉매를 이용한 에탄올화 반응에서 NaOH의 경우 더욱 높은 산가 감소를 나타내었다. 또한, 활성탄 처리가 오징어 간유의 이취성분 제

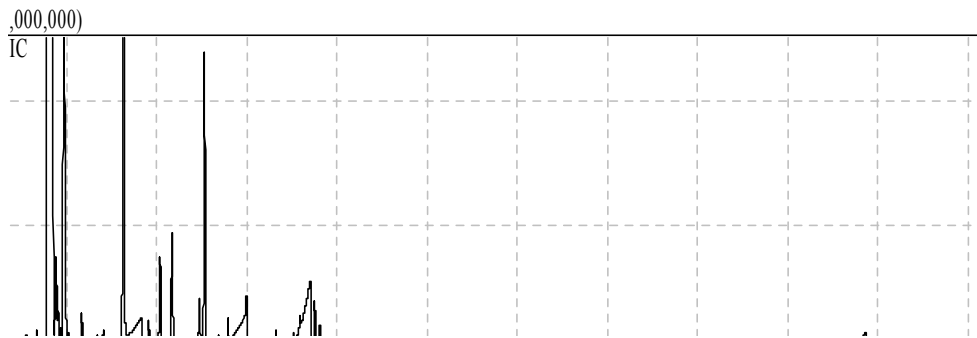


Fig. 3. VOCs (Volatile organic Compounds) of squid viscera oil before carbon adsorption.

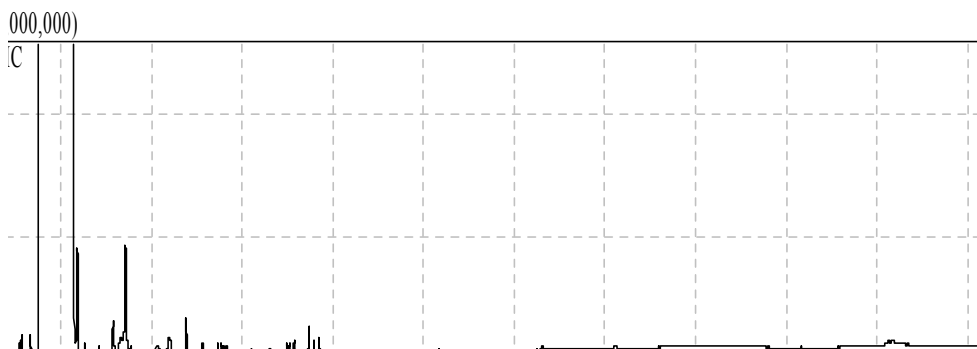


Fig. 4. VOCs (Volatile organic Compounds) of squid viscera oil after carbon adsorption.

Table 5. VOCs (Volatile organic Compounds) analysis of Squid viscera oil

Name	R. Time	before		after	
		Height	Area	Height	Area
Acetaldehyde	3.333	135440	519633	153616	472983
n-Butane	3.555	46055	105617	ND	ND
Propionaldehyde	4.402	394390	1923307	ND	ND
Diethyl ether	4.833	3125805	13510412	ND	ND
cis-2-Pentene	4.935	227393	841337	ND	ND
Isobutyraldehyde	5.812	198887	1001219	ND	ND
1-Propanol	6.062	67016	232008	ND	ND
Cyclopentane	6.507	51709	216043	ND	ND
Methylethylketone	7.023	220586	1045459	ND	ND
3-Methylpentane	7.243	40230	189119	ND	ND
sec-Butanol	7.617	36627	145262	ND	ND
Cyclohexane	11.603	33884	127794	593455	1608881
1-Penten-3-ol	12.352	530859	2198873	115256	524318
n-Pentanal	12.644	1490330	6525810	ND	ND
cis-1,3-Dimethylcyclopentane	12.982	22618	80263	ND	ND
1,3-dimethyl-Cyclopentane	13.138	15666	53544	ND	ND
1,2-dimethyl-Cyclopentane	13.280	22895	86923	ND	ND
Ethylcyclopentane	15.570	5132	17680	ND	ND
n-Decanoic acid	17.597	205361	584106	ND	ND
p-Xylene	20.603	67536	171597	38646	117148
Hept-trans-4-enal	21.182	39436	90273	ND	ND
n-Heptanal	21.410	4116	9861	ND	ND
cis-1,2-Dimethylcyclohexane	21.720	43324	114866	ND	ND
n-Nonane	21.963	62158	156622	78844	223297
Benzaldehyde	23.440	4449	43579	ND	ND
2,6-Diphenylphenol	49.292	111095	1890897	17007	100155

* ND : Not Detected.

거에 효과적인 결과를 나타내었으며, 무기축매를 이용한 에탄올화 반응과 마찬가지로 오징어 간유의 정제 공정을 대체 할 수 있을 것으로 판단되며, 산업적 전 처리법으로써 식품 산업 폐기 부산물로 버려지는 오징어 간유의 산업적 활용 가치를 높일 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글

이 논문은 2008년도 Brain Busan 21 사업에 의하여 지원되었음.

참 고 문 헌

- Ackman, R. G. 1988. The year of fish oils. *Chem. and Ind. Mar.*, 139.
- Ackman, R. G. 1989. Problems in fish oils and concentrates, in *Fats for the Future. R.C. Cambie(Ed.)* **13**, 189.
- Ackman, R. G., Ratnayake, W. M. N. and Macpherson, E. J. 1989. EPA and DHA contents of encapsulated fish oil products. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **66**, 1162.
- Bandarra, M. M., Nunes, M. L., Campos, R. M. and Batista, I. 2001. Variação Sazonal dos Lípidos de Sardinha sardina pilchardus. *Relatorio Técnico e Científico* 1992.
- Fukudaa, H., Kondob, A. and Nodac, H. 2001. Biodiesel fuel production by transesterification of oils. *Journal of Bioscience and Bioengineering* **92**(5), 405-416.
- Karmali, R. A., Marsh, J. and Fuchs, C. 1984. Effect of ω -3 fatty acid on growth of rat mammary tumor. *J. Nat. Cancer Inst.* **75**, 457.
- Lands, W. E. M. 1986. *Fish and Human Health*, Academic Press. Inc. Orlando
- Meher, L. C., Vidya Sagar, D. and Naik, S. N. 2006. Technical aspects of biodiesel production by transester-

1. Ackman, R. G. 1988. The year of fish oils. *Chem. and*

- ification - a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* **10**, 248-268.
9. Rambjor, G. S., Walen, A. I., Windsor, S. L. and Harris, W. S. 1996. Eicosapentaenoic acid is primarily responsible for hypotriglyceridemic effect of fish oil in humans, *Lipids* **31**, 45.
 10. Shimada Y., Watanabe Y., Sugihara A. and Tominaga Y. 2002. Enzymatic alcoholysis for biodiesel fuel production and application of the reaction to oil processing. *J. Mol. Catalysis B: Enzymatic* **17**, 133-142.