

아미계 수 가수분해를 이용한 미역으로부터 아미노산 회수

권경태 · 정고운 · 전병수[†]

부경대학교 식품공학과
608-737 부산시 남구 대연3동 595-1
(2010년 4월 20일 접수, 2010년 5월 25일 채택)

Amino Acid Recovery from Brown Seaweed(*Undaria pinnatifida*) Using Subcritical Water Hydrolysis

Kyung-Tae Kwon, Go-Woon Jung and Byung-Soo Chun[†]

Faculty of Food Science and Biotechnology, Pukyong National University, 599-1 Deayon-3 dong, Nam-gu, Busan 608-737, Korea
(Received 20 April 2010; accepted 17 May 2010)

요 약

본 연구에서는 아미계 수 가수분해 공정을 이용하여 동결건조 된 미역(*Undaria pinnatifida*)으로부터 아미노산 생산 조건 및 생성된 물질의 특성에 대하여 고찰하였다. 가수분해 장치는 회분식으로 설계 되었으며, 반응기는 내경 4.6 cm, 200 cm³ 부피 용량의 Hastelloy 276 강으로 제작된 것을 사용하였다. 반응기 내부에는 교반기가 부착되어 100 rpm으로 연속적으로 교반되도록 하였다. 시료는 동결건조 된 미역 파우더와 회수율 향상을 위해 부가된 1% acetic acid를 촉매로 한 반응용액을 1:100(w/v) 비율로 혼합시켜 반응을 진행시켰다. 반응물질의 혼합을 위해 100 rpm으로 일정하게 교반하였으며, 반응온도와 압력 변화에 따른 아미노산 생성 회수율을 고찰하였다. 실험조건은 온도 180~374 °C, 반응 시간 1시간이었다. 총 아미노산 함량은 고온의 조건에 비해 저온에서 높은 함량을 나타내었으며 분자량이 작은 아미노산(glycine, alanine, serine 등)이 분자량이 큰 아미노산들보다 높은 함량을 나타내었다. 아미노산의 최대 회수율(290.84 µg/mL)은 220 °C, 촉매 첨가조건에서 분석되었다.

Abstract – The objective of this research were to produce amino acids from freezing-dried brown seaweed(*Undaria pinnatifida*) powder by sub- and supercritical water hydrolysis and to characterize the products. The hydrolysis was carried out in a batch type reactor consisting of 4.6 cm inside diameter and 200 cm³ vessel and stir made of Hastelloy 276. A stir inside the reactor was continuously moving at 100 rpm. Brown seaweed powder and 100 mL of 1% acetic acid in distilled water were charged into the reactor at a ratio of 1:100(w/v). The applied conditions were 180~374 °C, respectively for 1 hour. The total amino acid content was found to be significantly higher in brown seaweed hydrolyzed by low temperature comparing to high temperature. The amounts of low molecular weight amino acids(glycine, alanine, serine etc) were higher than that of high molecular weight amino acids. The maximum yields of amino acids were produced at low temperature(220 °C) with acid catalyst.

Key words: Brown Seaweed, Subcritical Water Hydrolysis, Amino Acid

1. 서 론

미역은 갈조류에 속하는 해조류로서 한국, 일본, 중국 등 극동 아시아 지역에 분포하고, 연간 우리나라에서 생산되는 미역은 총 해조류 생산량의 43.5%를 차지할 만큼 그 비중이 크다. 미역을 구성하는 성분 중 수분을 제외하면 단백질, 탄수화물, 무기질이 주성분인데, 이중 단백질의 아미노산 조성은 콩, 어육 단백질과 유사하여 영양적으로 우수하며, 무기질은 칼슘, 마그네슘, 유황, 요오드, 철 등이 풍부

히 함유되어 있으며, 비타민 A 함량은 5,550 IU로서 다른 식품 재료에 비해 많이 함유 되어있는 것이 특징이다[1]. 또한 미역은 옛부터 식용, 호료, 약용, 해조공업의 원료, 가축사료 및 비료 등으로 이용되고 있으며 영양 및 생리효과가 뛰어난 것으로 밝혀져 있다[2]. 최근 해조류 유래 다양한 생리 활성이 밝혀지면서 새로운 고부가가치적 이용 방법에 대한 연구가 행해지고 있는데 이러한 기능성 물질을 분리하기 위한 기존의 방법은 산 가수분해와 효소 가수분해가 일반적이다[3]. 그러나 산 가수분해의 경우 가수분해과정에서 산이 상대적으로 높아 가수분해 반응기의 부식을 초래할 수 있으며, 산을 재활용하기 위한 회수공정도 어려운 것으로 알려져 있다[4]. 또한 효소 가수분해의 경우 긴 반응시간과 낮은 효율성이 산업화에 주요 장애

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

[‡]이 논문은 부경대학교 천재기 교수님의 정년을 기념하여 투고되었습니다.

요인이다. 따라서 현재 이러한 문제점을 해결할 새로운 공정이 요구되며 이중 주목받는 처리공정 중 하나가 아임계 및 초임계 수를 이용한 아미노산을 추출 공정이다. 아임계 및 초임계 수는 반응매체로서의 매력적인 물성으로 인해 최근 많은 과학자들로 부터 주목받아 오고 있으며[5,6] 탈수, 분해 및 환원반응 등의 광범위한 분야의 반응에 응용되어져 왔다[6]. 초임계 수 처리법은 산 가수분해 및 효소 가수분해에서 발생하는 문제점을 극복할 수 있으며 이미 셀룰로스[7]와 리그노셀룰로스[8]가 가수분해에 적용되었다. 아임계 및 초임계 수는 상온, 상압상의 물과는 전혀 다른 특성을 지니며 가수분해 반응을 촉진시키는 반응인자인 물의 이온적은 온도, 압력에 따라 제어 가능하여 가수분해반응을 촉진시키는 역할을 한다. 이러한 특성으로 아임계 및 초임계 수를 이용한 가수분해 반응은 광범위한 분야에 사용되어져 왔다. 페놀류, 피리딘 및 메탄올의 산화에 사용되어져 왔으며 폐수처리 및 독성 유기물질의 분해 등에도 응용되고 있다. 또한 최근에는 현사시 나무와 표고버섯 골목의 가수분해로서 바이오매스 적용에도 응용되는 등 다양한 분야에 이용되고 있다.[9-12]. 아임계 및 초임계 수 처리 공정의 실용화에 있어서 반응에 영향을 미치는 다양한 반응인자에 관한 정보는 공정과정에서 중요한 요소로 부각되어진다. 특히 온도와 압력 그리고 반응시간이 아임계 및 초임계 수 반응에 있어서 제일 중요한 요소로 보고되고 있으나, 실제 공정의 설계를 위해서는 다양한 조각모드에 있어서 각 반응에 따르는 생성물 조성 및 회수율에 관한 상호 관련성이 검토되어야 한다. 미역에 존재하는 단백질로부터 가수분해를 통해 생성되는 아미노산의 조성은 동물성 아미노산과 거의 유사하며 영양소적 가치가 풍부한 해조자원으로서 효율적으로 활용될 수 있으며 아임계 및 초임계 수 가수분해 공정을 통한 아미노산 생성반응은 저부가가치 식품의 고부가가치화를 이끌 수 있을 것으로 예상된다.

따라서 본 연구에서는 아임계 수 가수분해반응을 이용하여 촉매 존재 하에서 반응 온도 및 압력 변화에 따른 초임계 이산화탄소 처리 미역 원료와 건조된 미역으로부터 아미노산 생성 회수율을 비교 검토하였으며, 가수분해물의 아미노산 조성 확인 및 물리화학적 특성을 파악하여 아미노산 최적 생성조건을 확립하여 산업적 응용을 위한 기초자료를 확보하고자 한다.

2. 실험

2-1. 재료

실험에 사용된 해조류는 미역(*Undaria pinnatifida*) 이었고, 부산 시 기장군 소재인 (주)청호씨푸드로부터 수확 후 수세된 미역을 제공 받아 동결 건조 후 700 μm 로 분쇄하여 -20°C 압소에서 보관하며 사용하였다. 이산화탄소는 식품용 순도 99.9%를 사용하였으며, 분석 및 보조용매로 사용된 시약은 특급 시약이었으며 Whatman사의 nylon membrane filter(pore size=0.2 μm)로 여과하여 사용하였다. 미역의 초임계 이산화탄소 처리에 사용된 습은 의약품 탈지면을 사용하였다.

2-2. 실험방법

2-2-1. 미역의 일반성분 분석

일반성분 측정은 수분은 상압가열건조법, 조단백질은 킬달법, 조지방은 속슬렛법 및 조회분은 건식 회화법으로 측정하였다.

2-2-2. 초임계 이산화탄소를 이용한 미역의 지질 및 이취성분 제거

본 실험은 미역의 지질 및 이취성분을 제거한 시료와 원시료를 아임계 수 가수분해 시 초임계 이산화탄소 전처리가 아미노산 생성 회수율에 미치는 영향을 알아보기 위해 수행하였다. 실험 방법은 포화 압력 상태인 이산화탄소가 냉각기(-20°C)를 통과하여 이산화탄소 내에 존재하는 기포가 제거된 후 고압 정량펌프에 의해 일정한 유량으로 유입되어 공정내의 설정 압력까지 수행되어 졌다. 추출용매인 이산화탄소는 항온조에 의해 예열되어지고 반응기 내의 온도는 온도 조절기에 의해 추출 온도를 조절하게 되며 반응기 외부에 열 교환 재킷을 설치하여 반응기 내부의 온도를 일정하게 유지시켰다. 실험 종료 후 system 내의 고압으로 인한 압력의 역류로 고압펌프의 손상을 방지하기 위하여 고압펌프 출구에 check valve를 설치하였다. 초임계 이산화탄소는 반응기 내의 시료로부터 휘발성성분을 분리하여 낮은 압력 상태로 분리조 내에 유입되어 이산화탄소와 용제를 쉽게 분리시키게 하였다. 이때 추출공정 동안 사용된 이산화탄소의 양은 가스 측정 계를 통과함으로 측정되며 통과 후 대기로 방출된다.

2-2-3. 미역의 산 가수분해

아임계 수 가수분해 반응과 산 가수분해 효과를 비교하기 위해 초산을 사용하여 반응용액의 pH를 조정하였다. 1~5%의 초산 수용액을, 60°C 에서 1시간 동안 가수분해 반응시킨 다음, 반응을 중지시키기 위하여 0.05 M 수산화나트륨을 첨가하여 pH를 중성화시킨 후에 아미노산 분석기를 이용하여 생성물의 아미노산 농도를 측정하였다.

2-2-4. 미역의 아임계 수를 이용한 가수분해

미역의 아임계 수 가수분해에 사용된 가수분해 장치는 미역의 당화 반응에 사용된 장치와 동일하며 공정도는 Fig. 1에 나타내었다. 가수분해 실험은 미역 분말 1 g 과 증류수 100 mL(W/V, 1:100)으로 시료를 준비하고 반응기에 주입하였다. 촉매는 1% 초산 함유물을 사용하였다. 미역의 가수분해 반응은 전열기로서 가열하여 실험온도(200°C ~ 260°C)가 정상상태에 도달하면 1분 동안 가수분해시켰다. 충분한 방냉 후 반응물을 회수하여 아미노산 분석기를 사용하여 분석을 행하였다.

2-2-5. 미역의 아임계 수 가수분해물의 유리 아미노산 분석

가수분해 반응 생성물 중 5 g을 취해 에탄올을 30 mL를 첨가하여 4°C 에서 24시간 방치한 후 균질화하고 15분간 원심분리한다. 원심

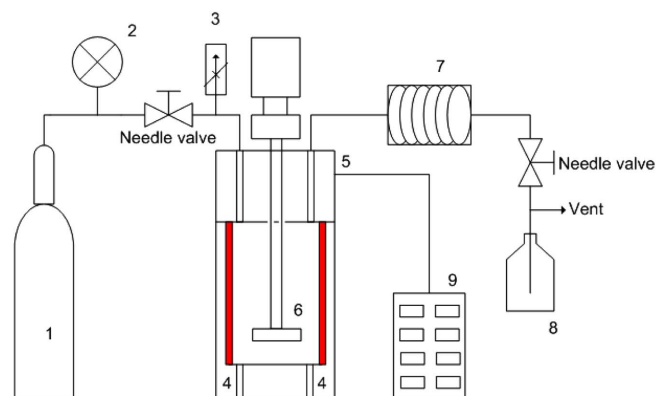


Fig. 1. Schematic diagram of the supercritical water hydrolysis apparatus.

- | | |
|--------------------------|--|
| 1. Ari tank | 6. Impeller |
| 2. Pressure gauge | 7. Cooling bath |
| 3. Safety valve | 8. Separator |
| 4. Electric heater | 9. Stirring speed & Temperature controller |
| 5. High pressure reactor | |

Table 1. Operating condition of amino acid analyser for analysis of free amino acids

Item	Operating condition
Instrument	Sykam amino acid analyzer S433
Column and Dimension	Column size 4 × 150 mm, Resin Li+form
Mobile phase	A : 35% Acetonitrile with 0.1% acetic acid B : 65% Acetonitrile with 0.1% acetic acid
Detector	UV detector (440 nm, 570 nm)
Flow rate	Reagent flow rate 0.25 mL/min Buffer flow rate 0.45 mL/min
Injection volume	50 uL
Analysis time set at the auto sampler	64 min
Switching reagent/water	55 min

분리 한 후 다시 70% 에탄올 30 mL 를 첨가한 후 다시 균질하여 분리하는 과정을 두 번 더 반복, 실시한 후 40 °C 이하에서 농축시킨다. 농축된 시료를 3차 증류수에 녹여 정용하고 설포살리실릭산 1 g 을 넣고 잘 혼합한 후 암실에서 1시간 방치한다. 다시 15분간 원심분리 하고 상층액 2.5 mL 를 취하여 필터링하여 분석한다.

분석은 아미노산을 양이온 교환 칼럼으로 분리한 후 다투드린 시 약과 120 °C에서 반응시켜 UV/VIS Detector로 검출하며 다투드린 법에서는 570 nm와 440 nm의 두 파장을 이용하였다. 프롤린 및 히드록시프롤린은 다투드린과 반응 후 황색을 내기 때문에 440 nm에서 검출을 하며 그 외의 아미노산은 다투드린과 반응 후 자주색을 내기 때문에 570 nm에서 검출하였다. 분석 조건은 Table 1에 나타내었다.

3. 결과 및 고찰

3-1. 일반성분의 분석

동결 건조된 미역의 일반 성분 분석 결과는 Table 2에 나타내었다. 미역의 일반성분 조성은 조지방 4.9%, 전당 60.36%, 수분 1.14%, 회분 13.5%, 조단백 20.1% 로서 아임계 수 가수분해를 이용한 아미노산 생성에 필요한 많은 양의 기질을 함유하고 있음을 알 수 있었다.

3-2. 미역의 아임계 수에 의한 가수분해

3-2-1. 초임계 이산화탄소의 영향

본 실험은 미역의 이취성분을 제거한 시료와 원시료를 아임계 수를 이용하여 가수분해 시 초임계 이산화탄소 처리가 미치는 영향을 알아보기 위해 수행하였다. Fig. 2는 1% 초산을 반응 촉매로 사용하여 반응 온도 200~260 °C 범위에서 아임계 수 가수분해를 이용하여 미역으로부터 아미노산 생산 회수율을 나타낸 결과이다. 두 기질 모두 200~220 °C 반응조건까지 아미노산 생성 회수율의 증가를 보였

Table 2. Proximate composition of *Undaria pinnatifida* Freezing dry basis(%)

Composition	Component(%)
Moisture	1.14
Crude protein	20.1
Crude lipid	4.9
Ash	13.5
Total sugar ^a	60.36

^a100-(moisture + crude protein + crude lipid + ash)

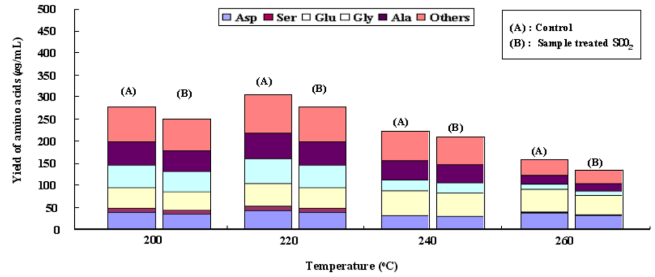


Fig. 2. Comparison of maximum yield and composition of amino acids in non-SCO₂ treated sample and after-SCO₂ treated sample from *Undaria-pinnatifida* by subcritical water hydrolysis.

으며, 220~260 °C 반응조건까지는 지속적인 감소를 보이는 유사한 경향을 나타내었다. 두 기질의 아미노산 생성 회수율의 차이는 크지 않았지만 초임계 이산화탄소가 처리된 시료가 원시료에 비해 낮은 회수율을 보였다. 이것은 초임계 이산화탄소를 이용한 미역의 이취 성분 제거 시 사용된 보조용매인 에탄올에 의해 미역의 단백질 함량이 감소된 것으로 판단된다.

3-2-2. 온도의 영향

Fig. 3은 비 촉매적 미역의 아임계 수 가수분해 반응에서 온도 변화에 따른 아미노산 농도를 분석한 크로마토그램이다. 결과에서 반응 온도가 증가함에 따라 생성되는 아미노산 회수율은 감소하였다. 이것은 반응 온도가 증가함에 따른 반응용매인 물의 용해력과 물질전달능력이 증가함에 따라 기질과 산소의 접촉을 활발하게 하여 기질의 산화를 촉진시키는 것으로 사료되며, 또한 아임계 수 가수분해를 이용하여 단백질로부터 아미노산 생성시 반응이 종료되지 않고 생성된 아미노산은 아임계 수에 의해 지속적으로 산화되어 유기산으로 전환된 것으로 판단된다. 아임계 수 가수분해반응에 의한 아미노산의 생성 및 분해의 예상경로를 Fig. 3에 나타냈다. 미역에 함유된 단백질은 가수분해반응에 의해 아미노산을 생성하며, 생성된 아미노산은 온도 및 반응시간의 증가와 더불어 분해하여 유기산 및 다른 화합물로 전환된다. 이들 화합물은 분해반응이 더 진행되어 최종생성물인 휘발성 탄소나 물로 분해되는 것으로 판단된다. 이러한 연속반응에서 중간 생성물인 아미노산의 효과적인 회수를 위해서는 다른 생성물로 전환되기 이전에 반응의 종결을 필요로 한다[13].

따라서 반응 종료 후 이러한 부가 반응을 방지하기 위해 반응 온도의 제어가 필수적이라고 볼 수 있으며 아임계 수 가수분해 반응 시 아미노산의 최적 생성 회수율을 위하여 더욱 세부적인 반응 온도에 대한 검토가 필요하다고 판단된다.

3-2-3. 촉매의 영향

미역의 아임계 수 가수분해 반응 시 촉매의 영향을 고려하여 촉매적 아임계 수 가수분해와 비촉매적 아임계 수 가수분해를 수행하였고 그 결과는 Fig. 4, 5에 나타내었다. 일반적으로 가수분해 반응시 촉매의 존재는 반응 속도와 반응 생성율을 높여 결과적으로 반응 효율성을 높여 준다. 아임계 수 가수분해 역시 촉매적 가수분해 반응이 비촉매적 가수분해 반응에 비해 반응 온도가 낮아지며 아미노산 생성 회수율 또한 높아져서 보다 효율적으로 가수분해 반응을 이끄는 것으로 나타났으며, 이것은 촉매로 사용된 초산이 아임계 수에 의한 가수분해반응에서 발생하는 산소의 산화를 활성화시키기 때문인 것으로 사료된다.

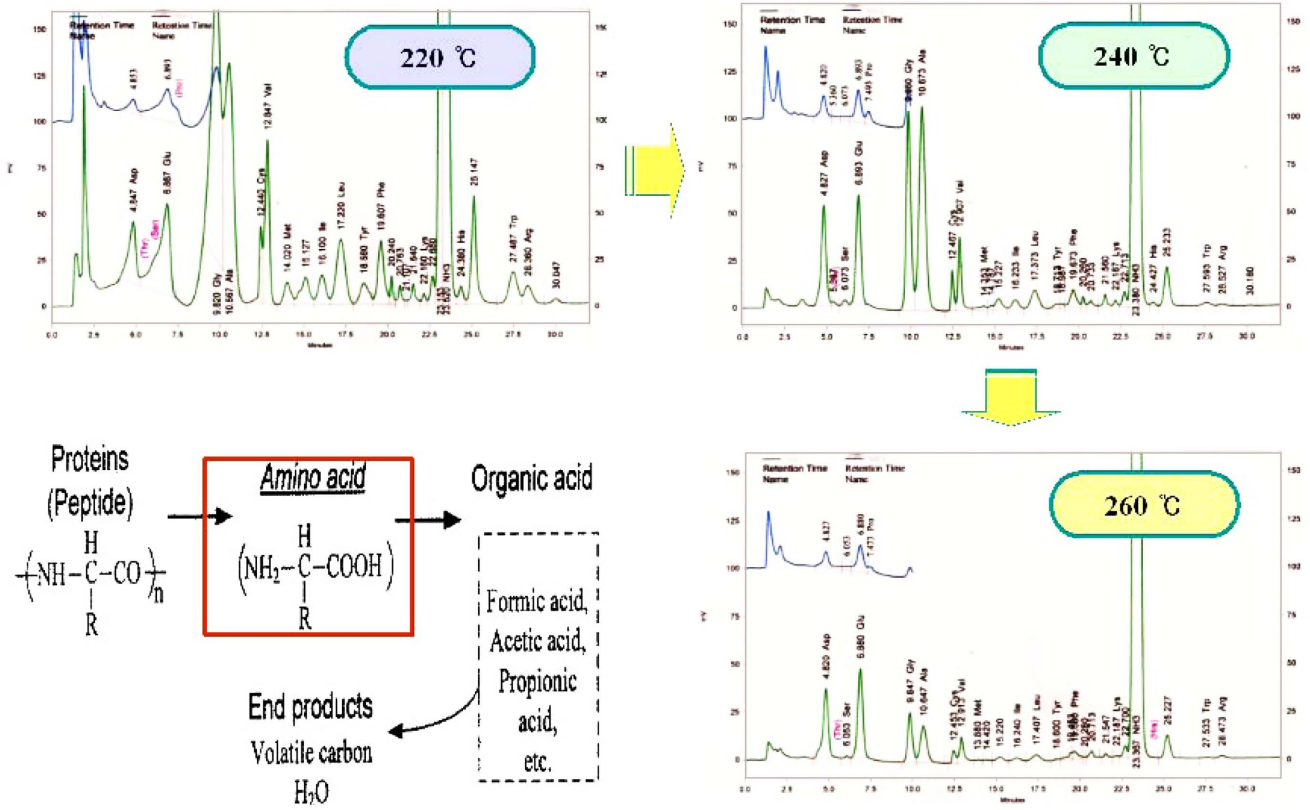


Fig. 3. Effect of temperature on reaction pathway for the production of amino acids from *Undaria pinnatifida*.

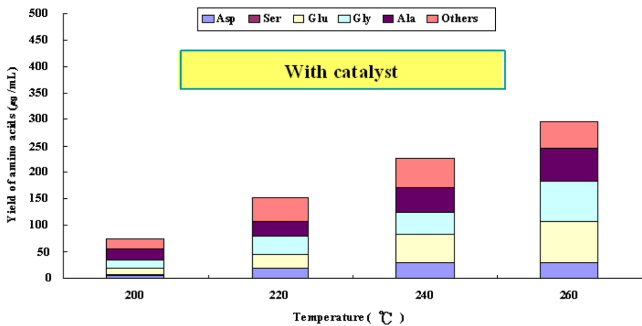


Fig. 4. Amino acids yield with catalyst from *Undaria pinnatifida* by subcritical water hydrolysis in batch process.

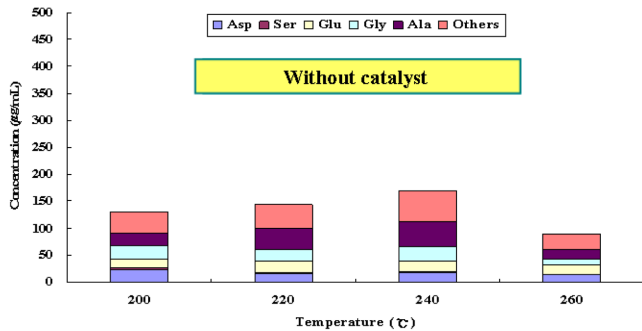


Fig. 5. Amino acids yield without catalyst from *Undaria pinnatifida* by subcritical water hydrolysis in batch process.

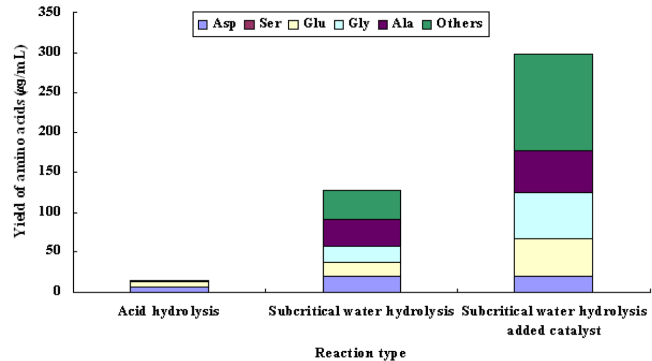


Fig. 6. Comparison of amino acids yield from *Undaria pinnatifida* by reaction type.

적 아미계 수 가수분해를 이용하여 미역으로부터 아미노산 생성 시 회수율을 비교한 그래프이다. 산을 이용하여 미역을 가수분해하였을 경우 아미노산 생성 회수율은 25.32 µg/mL로 가장 낮은 회수율을 나타내었으며 촉매적 아미계 수 반응 시 아미노산 생성 회수율이 290.84 µg/mL로 산가수분해 반응에 비해 약 10배 가량 높은 생성 회수율을 나타내었다.

한편, 비촉매적 아미계 수 반응 역시 아미노산 생성 회수율이 148.95 µg/mL로 산가수분해 반응보다 약 6배 가량 높은 생성 회수율을 나타내었으며, 촉매적 가수분해 반응시보다 약 1/2배 가량 낮은 생성 회수율을 나타내었다. 결과적으로 아미계 수를 이용한 미역의 가수분해 반응이 기존의 산 가수분해보다 반응성이 훨씬 크며, 반응 시간을 크게 단축하여 효율적인 아미노산 생성을 가능하게 함을 확인할 수 있었다.

3-2-4. 산 가수분해 및 아미계 수 가수분해능 비교
Fig. 6은 산 가수분해와 비촉매적 아미계 수 가수분해 그리고 촉매

4. 결 론

참고문헌

저이용, 저부가가치 식량자원인 해조류부터 고부가가치 기능성 물질의 회수 가능성을 검토하기 위하여 아임계 수에 의한 가수분해반응을 이용하여 미역으로부터 아미노산의 생성반응 및 반응 영향 인자에 관한 실험적 연구가 수행되었으며 다음과 같은 결과를 도출하였다.

각 시료는 아임계 수에 의해 가수분해시 200~220 °C 반응온도까지 아미노산 생성 회수율의 증가를 보였으며, 220~260 °C 반응온도까지는 지속적인 감소를 보이는 유사한 경향을 나타내었다. 초임계 이산화탄소에 처리 후 시료가 처리 전 시료에 비해 낮은 회수율을 보였으며 이는 초임계 이산화탄소를 처리시 사용된 보조용매 ethanol의 영향으로 판단된다. 비 촉매적 아임계 수 가수분해 반응에서 온도 변화에 따른 아미노산 농도는 반응 온도가 증가함에 따라 감소하였다. 이것은 반응 온도가 증가함에 따른 반응용매인 물의 용매력과 물질전달능력이 증가하여 기질과 산소의 접촉이 활발해져 기질의 산화를 촉진시키는 것으로 판단되며, 또한 아임계 수 가수분해를 이용하여 단백질로부터 아미노산 생성 시 반응이 종료되지 않고 생성된 아미노산은 아임계 수에 의해 지속적으로 산화되어 유기산으로 전환된 것으로 판단된다. 따라서 반응 종료 후 이러한 부가 반응을 방지하기 위해 반응 온도의 제어가 필수적이라 할 수 있다.

산 가수분해, 비촉매적 아임계 수 가수분해에 비해 촉매적 아임계 수 가수분해 반응에서 높은 아미노산 생성 회수율을 나타내었으며 아임계 수 가수분해반응이 산 가수분해반응에 비하여 높은 생성회수율을 나타내었다.

결과적으로 아임계 수에 의한 가수분해 반응 공정은 미역단백질로부터 아미노산 회수에 적합한 친환경 공정으로서 미역의 가수분해 반응이 기존의 가수분해 공정보다 반응성이 우수하며, 반응 시간을 단축하여 효율적인 아미노산 생성을 가능하게 함을 확인할 수 있었다.

감 사

본 연구는 중소기업청의 산학연 공동기술개발 컨소시엄사업 연구비 지원으로 수행된 연구결과이며 이에 감사드립니다.

1. Ministry of Maritime Affairs and Fisheries: Factbook., 986(1997).
2. Lee, J. H. and Sung, V. J., "The Content of Minerals in Algae," *J. Korean Soc. Food & Nutr.*, **9**(1), 51-58(1980).
3. Seo, H. B., Han, J. G., Choi, W. S., Lee, O. K., Choi, S. H., Lee, H. Y. and Jung, K. H., "Bioethanol Production from Wood Biomass Hydrolysate with Supercritical Water Treatment," *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **23**(6) 494-498(2008).
4. Faaij, A. P. C., "Changing Technology Choices, Energy Policy," *Bio-energy in Europe.*, **34**, 322-342(2006).
5. Shaw, R. W., Brill, T. B., Clifford, A. A., Eckert, C. A. and Franck, E. U., *Chem. Eng. News.*, **12**, 26(1991).
6. Savage, P. E., Gopalan, S., Mizan, T. I., Martino, C. J. and Brock, E. E., *AIChE J.*, **41**, 1723(1995).
7. Ishikawa, T. and Saka, S., "Chemical Conversion of Cellulose as Treated in Supercritical Methanol," *Cellulose*, **8**, 189-195(2001).
8. Miyafuji, H. and Saka, S., "Bioethanol Production from Lignocellulosics Using Supercritical Water," *ACS Syn.*, **954**, 422-433(2007).
9. Martino, J. C. and Savage, P. E., "Oxidation and Thermolysis of Methoxy-, Nitro-, and Hydroxy-substituted Phenols in Supercritical Water," *Ind. Eng. Chem. Res.*, **38**, 1784-1791(1999).
10. Goto, M., Nada, T., Kawajiri, S. and Kodama, A., "Decomposition of Municipal Sludge by Supercritical Water Oxidation," *J. Chem. Eng. Japan.*, **30**, 813-818(1997).
11. Shaw, R. W., Brill, T. B., Clifford, A. A., Eckert, C. A. and Franck, E. U., "Supercritical Water a Medium for Chemistry," *Chem. Eng. News*, **12**, 26(1991).
12. Choi, J. W., Lim, H. J., Han, K. S. and Choi, D. H., "Thermochemical Conversion of poplar Wood to Monomeric Sugars by Supercritical Water Treatment," *Mokchaekonghak*, **34**(6), 44-50(2006).
13. Kang, K. Y., Kim, Y. H. and Chun, B. S., "Amino Acids Recovery from Fish Entrails by Hydrolysis in Sub- and Supercritical Water," *J. Korean ind. Eng. Chem.*, **16**, 28-33(2005).