

## 물고기 기름으로부터 지방산의 초임계 유체 추출에 미치는 작동변수의 영향

노덕우 · 구경모 · 허병기\*  
인하대학교 화공 · 고분자 · 생물공학부

### The Effects of Operation Variables on the Efficiency of Supercritical Fluid Extraction of Fatty Acids from Fish Oil

Duck Woo Noh, Gyoung Mo Goo, and Byung Ki Hur  
School of Chemical, Polymer, and Biological Engineering, Inha University

#### Abstract

Eicosapentaenoic acid (EPA) and Docosahexaenoic acid (DHA) were extracted from the mixture of fatty acids, which is composed of from 12 to 22 carbons, by the Supercritical Fluid Extraction (SFE) process. In this study, the relation among the extraction characteristics of EPA and DHA such as extraction temperature, flow rate and volume of CO<sub>2</sub> fluid, and working pressure was investigated. The concentrations of EPA and DHA in the extract increased with both the decrease of flow rate of CO<sub>2</sub> and the reduction of volume CO<sub>2</sub> used for the extraction. Therefore, the solubility data at equilibrium were obtained by extrapolating these results to the zero of flow rate of CO<sub>2</sub> and to the zero of volume of CO<sub>2</sub>. At constant temperature, the solubilities of EPA and DHA in a supercritical fluid increased rapidly with pressure. This occurs because of the rapid rise in the density. At constant extraction pressure, the solubility of various fatty acids decreased with the increase of temperature and showed a minimum value at a particular temperature. This phenomena, what is called retrograde condensation, was occurred in the region of 30°C to 50°C, and nonretrograde condensation took place from 50°C up.

Key words: eicosapentaenoic acid, docosahexaenoic acid, supercritical fluid extraction, retrograde condensation, nonretrograde condensation

#### 서 론

초임계 유체 추출은 임계압력과 임계온도이상의 초임계 유체를 이용하여 시료 매트릭스 중에서 분석하고자 하는 성분만을 추출해내는 추출공정이다. 액체 혼합물로부터 특정성분을 분리해내기 위하여 현재까지 널리 이용되고 있는 분리방법에는 구성성분의 휘발도 차이를 이용한 증류법과 용해도 차이를 이용한 용매 추출 방법 등이 있다. Williams (1981)와 Hara 등 (1978)과 Dzievak (1986)의 발표에 의하면 이들 방법은 기술적인 측면에서 안정한 조작법이나 다음과 같은 단점이 있다고 보고하였다. 증류법을 이용하는 경우에는 에너지 소비가 과다할 뿐만 아니라 비등점이 높은 혼합물인 경우에는 분리해내려는 물질이 열 변

성을 일으키거나 분해되는 단점도 있다. 용매 추출법은 에너지 소비 측면에서는 경제적이거나 용매 회수가 용이하지 않는 단점 이외에 분리하려는 물질에 대한 적절한 용매를 선택하기가 쉽지 않은 어려움도 있다. 이러한 단점을 보완하기 위하여 최근에는 초임계 유체를 용매로 이용하는 초임계 용매 추출 연구가 활발하게 진행되고 있다. 초임계 유체 추출은 초임계 유체의 용해력을 이용한 단위조작의 하나이다. 초임계 유체 추출법은 증류에 비하여 분리에 소요되는 에너지 양이 적으며 열에 민감한 물질을 열 변성 또는 열분해의 위험 없이 분리해낼 수 있는 장점이 있다고 Rizvi 등(1986)은 보고하였다. 또한 McHugh (1886)와 Hoyer (1985)에 의하면 용매 추출법에 비해서 초임계 유체 용매는 회수가 용이하며 무독성, 비활성이기 때문에 독성문제가 까다로운 식품 및 의약품 등의 추출에 유리하고 초임계 상태에 있는 물질의 물성은 액체와 기

Corresponding author: Byung Ki Hur, School of Chemical, Polymer, and Biological Engineering, Inha University

체의 물성을 절충한 특수한 물성을 나타낸다고 보고하였다. 이러한 특성 때문에 실제 추출 공정에 초임계 유체를 이용하는 것이 대단히 유리하다. 초임계 CO<sub>2</sub>의 경우 밀도는 기체 밀도의 약 1,000배까지 증가하여 액체 이산화탄소의 밀도와 유사한 값을 나타내어 용해도가 기체 이산화탄소의 용해도에 비하여 10,000배 이상 증가한다. 이에 반하여 점도는 기체 점도보다 10배 이상 높은 값을 나타내나 액체 점도의 20분의 1정도의 값에 불과하여 추출 대상인 혼합물에 대한 침투성이 우수하게 된다. 또한 물질 분리속도에 영향을 미치는 확산계수는 액체 이산화탄소에 비하여 100배 이상의 큰 값을 나타낸다. 따라서 용해력을 결정하는 변수 제어의 폭이 대단히 넓어지게 된다. 그러나 초임계 유체 추출 공정을 도입하기 위해서는 분리하려는 물질의 온도에 대한 민감성, 응축 또는 핵 형성의 용이성, 그 외 여러 인자와 변수들에 대한 검토와 평가가 있어야 하며 분리하려는 물질 및 공정에 적합한 초임계 유체를 선정하여야 한다. 임계점에서 몇 가지 물질의 임계 특성치를 고찰하면, 물은 가장 큰 압력과 높은 온도가 필요하여 사용하기 어렵다. 암모니아의 경우, 후드 또는 증기 배출 시스템이 필요하다. 아질산(HNO<sub>2</sub>)은 광범위하게 사용되고 있으며 극성이고 적절한 임계온도, 압력을 갖는다. 그러나 아질산과 유지 및 지방사이의 폭발성 반응 때문에 주의를 요하며, 일반 물질 추출에 사용하기 어렵다. 탄화수소는 물질의 선택성이 우수한 반면, 인화성이며 폭발하기 쉬운 위험물질이다. CO<sub>2</sub>는 비극성 용매이며 용해력은 밀도에 따라 광범위하게 달라진다. 임계 온도 31.1°C에서 압력을 73 bar에서 350 bar로 변화시키면 밀도는 0.4에서 0.9 mg/mL로 변하므로 압력과 온도로 용해력을 제어할 수 있다. 따라서 본 연구에서는 임계 온도가 비교적 낮고 무독성이며 화학적으로 비활성인 이산화탄소를 초임계 유체로 선정하였다.

본 연구에서는 C14:0, C16:0, C16:1, C18:1, C20:1, C22:1, C20:5 (ω3), C22:6 (ω3)의 지방산으로 구성되어 있는 물고기 기름으로부터 이중 ω3인 불포화 지방산(PUFA)인 EPA (C20:5)와 DHA (C22:6)를 초임계 유체로 분리하고자 하였다. Ching (1992), Moffat 등 (1993)과 Nilson 등(1988)의 연구 결과에 의하면 EPA와 DHA는 인체의 대뇌 피질, 망막, 고환, 정자를 이루는 구성 성분인데 최근의 임상연구 결과에 의하면 염증성 치료에 확실한 효과가 있으며 어떤 종류의 종양 성장을 저해하는 것으로 밝혀졌다. 그러나 순수 성분으로 분리하는데 소요되는 비용이 클 뿐만 아니라 열과 공기의 접촉에 의하여 쉽게 변성되는 단점도 있다

고 발표하였다. 이들 단점을 보완하기 위하여 초임계 추출 연구가 몇몇 연구자들에 의하여 연구를 수행되고 있다. 그러나 이들 연구는 추출칼럼의 온도 분포를 열역학적 평형 자료에 근거를 두지 않고 임의로 설정한 연구로 실제 공정설계의 기초 자료로 이용하는 데는 문제점이 많다. 따라서 본 연구에서는 초임계 유체를 사용한 회분식 추출 실험을 통하여 초임계 유체-액체 추출공정에서 특정 물질의 분리 성능에 미치는 초임계 유체 작동변수의 영향을 규명하였다. 물고기 기름의 지방산 혼합물로부터 EPA와 DHA를 추출해내는 공정 개발을 위하여 CO<sub>2</sub> 유체의 온도, 압력, 유속 및 부피가 EPA와 DHA 뿐만 아니라 다른 지방산의 추출특성에 미치는 영향을 규명하여 보았다.

## 재료 및 방법

### 초임계 유체 추출 장치

Hewlett-Packard (USA)사의 HP 7680T 모델의 초임계 유체 추출 장치를 사용하였다. 이 시스템은 펌프, 추출 용기, 가변조절기, 추출물 수집기 및 시스템 제어

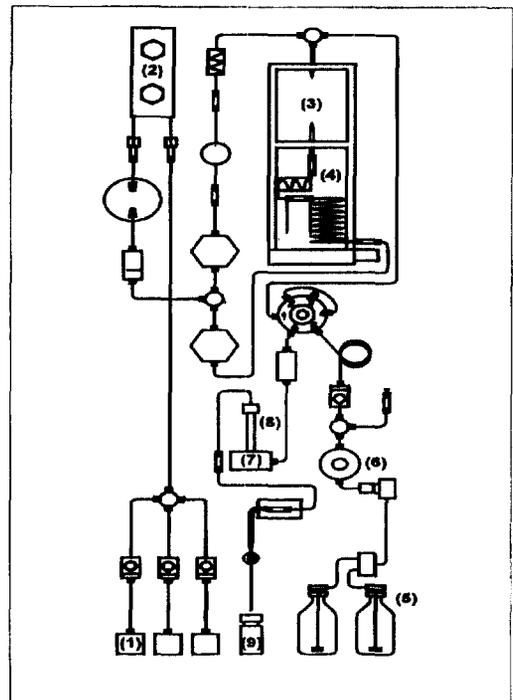


Fig. 1. System of Supercritical Fluid Extractor. (1) Extraction fluid inlet valve, (2) Extraction fluid pump, (3) Extraction chamber, (4) Preheat assembly, (5) Rinse solvent reservoir, (6) Rinse pump, (7) Nozzle, (8) Analyte trap, (9) Extract collection vial

장치로 구성되어 있다(Fig. 1). 추출 시료가 들어있는 추출 용기는 추출 chamber로 이송, 장착된다. 추출 chamber의 bypass valve에 의하여 추출 용기로 흐르는 유량을 제어하여 추출 용기내의 밀도가 설정한 밀도에 도달하게 한다. 또한 고압의 밀봉이 가능하여 추출의 재현성이 높다. 추출 용기는 고압(400 bar)에 견디며 화학적으로 안정한 스테인리스강으로 제작되었으며 용량은 7.0 mL이다. 펌프는 피스톤의 왕복운동을 통하여 초임계 유체를 저장조로부터 시료 주입기로 밀어주는 방식으로 실린더와 연결된 관의 앞뒤에는 check valve가 있어 용매의 역 방향 흐름을 방지한다. 또한 두개의 피스톤을 서로 반대방향에서 운동시킴으로써 각 피스톤에 의하여 발생한 펄스를 상쇄시키도록 되어있다. 가변 조절기는 plunger로 orifice의 크기를 조절하여 시스템의 압력과 유속을 조절한다. 가변 조절기는 고정 조절기에 비해 보다 고르게 압력이 전달되어 CO<sub>2</sub>가 노즐을 빠져 나오면서 즉시 압력이 떨어지게 되어 막힘 현상이 일어나지 않도록 하며 orifice의 온도를 조절하여 Joule-Thomson cooling을 상쇄시킨다. 추출물 취합기는 추출물에 적합한 충전제를 선택하여 사용할 수 있다. 추출물 취합기에 취합된 추출물은 적절한 세척 용매로 용리시켜 추출물을 회수한 후 분석한다. 추출물 수집기의 온도 제어 범위는 -30°C에서 120°C로써 CO<sub>2</sub>를 이용한 초 냉각이 가능하다. 본 연구에서는 직경이 0.5 mm이고 스테인리스강으로 제작된 구를 충전제로, hexane을 세척 용매로 사용하였다.

**물고기 기름**

정어리와 밴댕이 류의 해양 어류를 잘게 썰어 삶은 후 압착하여 원료 유를 얻은 후 탈산, 진공건조, 냉각여과, 탈취 등의 공정을 거쳐 제조한 LiPRO AS (Norway)사의 물고기 기름을 구입하여 사용하였으며 이 물고기 기름은 EPA 18%, DHA 15%를 함유하고 있다.

**물고기 기름의 에스터화 반응**

Rizvi 등(1988)은 극성을 띠고 있는 지방산의 카르복실기가 메탄올과 에스터 결합을 형성하게 되면 비극성 용매인 초임계 CO<sub>2</sub>에 대한 용해도가 증가한다고 보고하고있다. 본 연구에서는 Guy Lepage (1984)의 방법을 변형하여 물고기 기름을 에스터화 시켜 실험에 사용하였다.

**분석**

Hewlette-Packard사의 5890 series II 모델의 가스 크로마토그래프로 추출물을 분석하였다. Detector는 FID를 사용하였으며 Column은 Hewlett-Packard사의 HP-1 column을 사용하였다. Oven의 온도는 100°C (2 min)+2/min (45 min)+190°C (2 min)으로 프로그램하였으며 Detector의 온도는 250°C이었다. 정량 분석을 위한 표준 시약은 Sigma사에서 구입하였다.

**추출 조건**

CO<sub>2</sub>의 유속과 부피, 온도와 밀도를 Table 1, 2처럼 결정하여 총 176회의 추출실험을 수행하였다. 유속의 범위는 0.6 mL/min 내지 2.0 mL/min으로 온도는 임계 온도 근방인 30°C부터 60°C까지 설정하였다.

**결과 및 고찰**

초임계유체 CO<sub>2</sub>의 유속과 부피가 각 지방산들의 초임계유체 추출에 미치는 영향

Table 2의 압력과 온도의 상태 변수 조합 11종류에 각각에서 CO<sub>2</sub>의 유속과 부피가 초임계 유체 추출에 미치는 영향을 알아보기 위하여 Table 1의 16가지 CO<sub>2</sub>의 유속과 부피간의 조합에 대한 추출 실험을 수행하면서 추출되는 지방산의 조성이 평형조성에 가깝게 도달하는 값을 얻을 수 있도록 Fig. 2와 Fig. 3에 실험값을 나타내었다. Fig. 2는 추출온도를 30°C, 압력을 114 bar, 사용한 액체 CO<sub>2</sub>의 부피를 2.5, 5.0, 7.5, 10 mL로 고정하고, 유속을 0.6~2.0 mL/min으로 변화시켜가면서 추출한 실험결과를 나타내고 있다. 사용한 CO<sub>2</sub>의 부피를 일정하게 고정시키고 CO<sub>2</sub>의 유속을 변

**Table 1.** 초임계 유체 추출시 추출시간(단위: min)

유속 (mL/min)	CO <sub>2</sub> 부피 (mL)			
	2.5	5.0	7.5	10
0.6	4.17	8.33	12.50	16.67
1.0	2.50	5.00	7.50	10.00
1.5	1.67	3.33	5.00	6.67
2.0	1.25	2.50	3.75	5.00

**Table 2.** 초임계유체 추출에 이용한 밀도와 온도조건

●: 실험수행

온도(°C)	밀도(g/ml)			
	0.30	0.60	0.80	0.90
30			●	●
40	●	●		●
50	●	●		●
60	●	●	●	

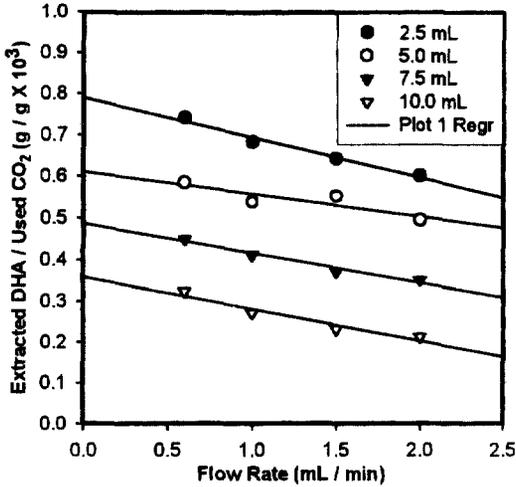


Fig. 2. Extracted DHA/Used CO<sub>2</sub> vs. Flow Rate of Liquid CO<sub>2</sub> Flowing into the supercritical fluid extraction system (SFES) at constant 30°C and 114 bar.

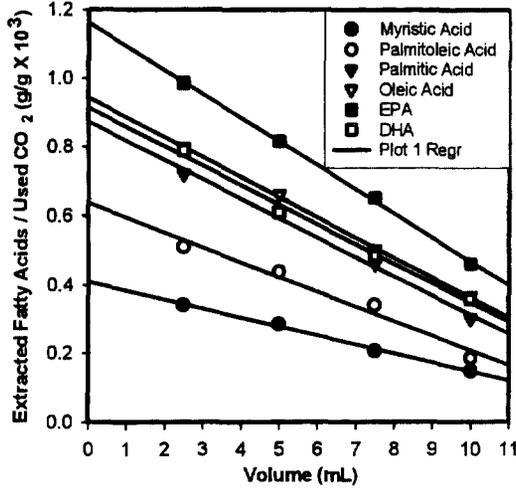


Fig. 3. Extracted Fatty Acids/Used CO<sub>2</sub> vs. Volume of Liquid CO<sub>2</sub> Flowing into the supercritical fluid extraction system (SFES) at constant 30°C and 114 bar.

화시켰을 때, 사용된 CO<sub>2</sub>의 단위질량당 추출되는 DHA의 양은 유속이 감소할수록 완만하게 증가하며 또한 Fig. 3에 보이듯이 CO<sub>2</sub>의 부피가 감소할수록 증가하는 경향을 보였다. 이 결과에 의해서 초임계 유체 CO<sub>2</sub>를 사용한 지방산의 추출공정에서 CO<sub>2</sub>의 유속을 낮출수록, CO<sub>2</sub> 유체의 사용량을 적게 할수록 추출되는 지방산의 조성이 평형조성에 접근함을 알 수 있었기 때문에 Fig. 2, 3에 나타낸 것처럼 사용된 CO<sub>2</sub>당 추출된 지방산의 농도 축에 linear regression으로 외삽을 하여 추출되는 지방산의 평형 조성 농도값을 구하였

다. 추출되는 용질의 용해도값을 아는 것은 추출의 초기 단계를 가속화시키고 어느 정도까지 공정의 시간을 단축시키며 또한 분석을 방해할 수도 있는 원하지 않는 용질의 추출을 최소화하는 조건들을 선택하도록 할 수 있기 때문에 매우 중요하다.

추출압력이 지방산의 초임계 유체 추출 특성치에 미치는 영향

Table 2의 추출온도 30°C, 40°C, 50°C, 60°C에 대하여 압력을 변화시키면서 추출실험을 수행하며 CO<sub>2</sub>내의 EPA와 DHA의 용해도와 추출압력 사이의 함수관계를 Fig. 4, 5에 나타내었다. 초임계 유체에서 어떤 물질의 용해도는 물질의 휘발도와 초임계 유체의 용매화 효과(solvating effect)의 두가지 요소에서 기인하는데 EPA와 DHA인 경우 CO<sub>2</sub>의 임계압력 73.8 bar 이상에서는 추출압력이 증가하면 추출온도에 관계없이 용해도가 모두 증가하였다(Fig. 4, 5). Westwood(1993)는 압력의 증가에 따른 밀도의 증가로 인하여 용해도가 상승된다고 보고하였다. 따라서 CO<sub>2</sub> 유체인 경우 임계압력 이상에서의 용해도는 유체의 용매화 효과에 보다 큰 영향을 받는다고 해석할 수 있다. 이런 경향은 압축성이 큰 임계점 근처에서 특히 그러하다. 또한 추출압력이 120 bar 이하인 경우와 120 bar 이상인 경우에 압력 변화에 따른 추출 특성은 서로 다른 경향을 나타내고 있다. 추출압력 120 bar 이상에서는 추출온도가 50°C, 40°C, 60°C 및 30°C의 순서로 큰 값을 나타낸다. 반면에 120 bar 이하인 경우에는 40°C, 50°C, 60

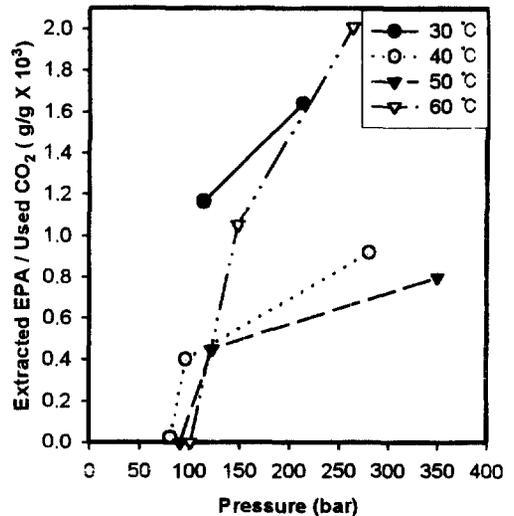


Fig. 4. Extracted EPA/Used CO<sub>2</sub> vs. Extraction Pressure.

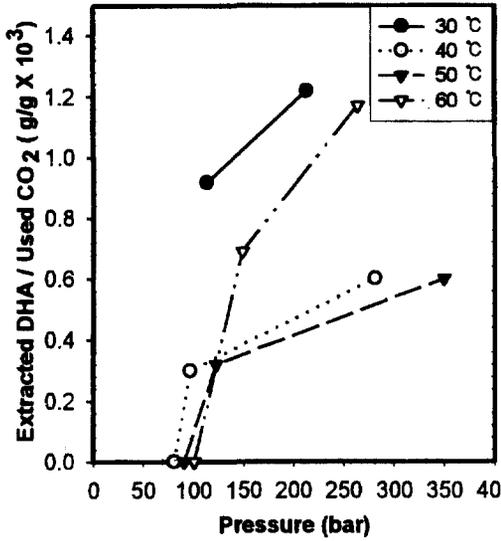


Fig. 5. Extracted DHA/Used CO<sub>2</sub> vs. Extraction Pressure.

°C 순서로 감소하는데 이러한 현상은 Nilson 등(1988)이 보고한 바와 같이 임계점 근방의 압력에서 적당한 온도의 증가는 유체의 밀도를 크게 감소시켜 지방산의 용해도 감소를 초래하기 때문인 것으로 보여진다. 이러한 실험 결과에 의해서 EPA와 DHA의 추출농도를 증대시키기 위해서는 추출온도는 CO<sub>2</sub> 임계온도 부근의 값으로, 추출압력은 200 bar에서 300 bar 사이의 값으로 유지시키는 것이 적합하다고 할 수 있다. 또한 Eisenbach (1984)는 유체와 용질의 혼합물을 추출온도와 같은 온도에서 감압하여 팽창 시키면 초임계 유체의 용해력이 감소함으로 용질의 분리에 초임계 유체 추출공정을 적용할 수 있다고 보고하였다. 추출온도를 일정하게 유지시켰을 때 CO<sub>2</sub> 유체에 대한 EPA와 DHA의 용해도는 문헌에서 지정한 바와 같이 압력 증가에 따라 상승하는 경향을 나타내었다.

추출온도가 지방산의 초임계 유체 추출특성치에 미치는 영향

초임계 유체 CO<sub>2</sub>의 압력을 100 bar, 150 bar, 200 bar, 250 bar 및 300 bar로 고정시켰을 때 추출온도 변화가 각 지방산들의 추출농도 특성 즉, 용해도에 미치는 영향을 알아보았다(Fig. 6, 7). 추출압력 150 bar 내지 250 bar의 범위에서는 추출온도 50°C까지는 온도가 증가함에 따라서 각 지방산들의 용해도가 감소하며 추출압력 100 bar에서는 60°C까지 온도가 증가함에 따라서 각 지방산들의 용해도가 감소하는 경향을

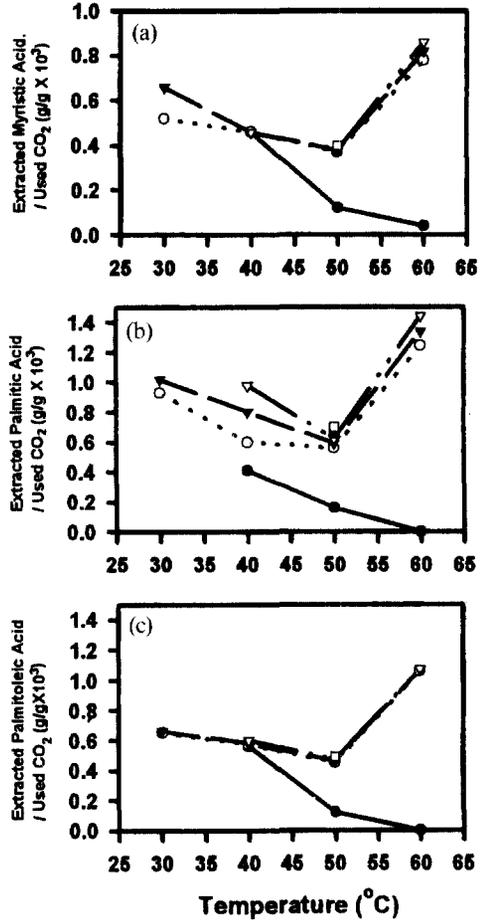


Fig. 6. The effects of extraction temperature on the solubility of extracted fatty acids in a supercritical fluid. (a) Myristic Acid (b) Palmitic Acid (c) Palmitoleic Acid ●: 100 bar, ○: 150 bar, ▼: 200 bar, ▽: 250 bar, ■: 300 bar, □: 350 bar.

나타내었다. 이러한 감소 경향은 Hoyer (1985)와 Nilson 등(1988)의 보고한 바와 같이 온도가 증가할 때, 밀도와 용매화 효과(solvating effect)가 감소하는 역행 응축(retrograde condensation) 현상으로 해석할 수 있다. 온도 변화에 대해서 지방산들의 용해도 농도 변화 경향이 Fig. 6. (a), (b), (c) 와 Fig. 7 (a), (b), (c)에서 알 수 있듯이 온도 변화에 따른 용해도의 변화는 지방산의 종류에 따라서 서로 다른 경향을 나타내었다. 압력 150 bar에서 200 bar의 범위에서 myristic acid, palmitic acid와 palmitoleic acid의 용해도는 60°C에서 큰 값을 나타내었으나 oleic acid, EPA, DHA의 경우에는 30°C에서 제일 큰 값을 나타내었다. 이러한 경향은 분자량의 차이에 의해서 나타나는 경향이라고 해석할

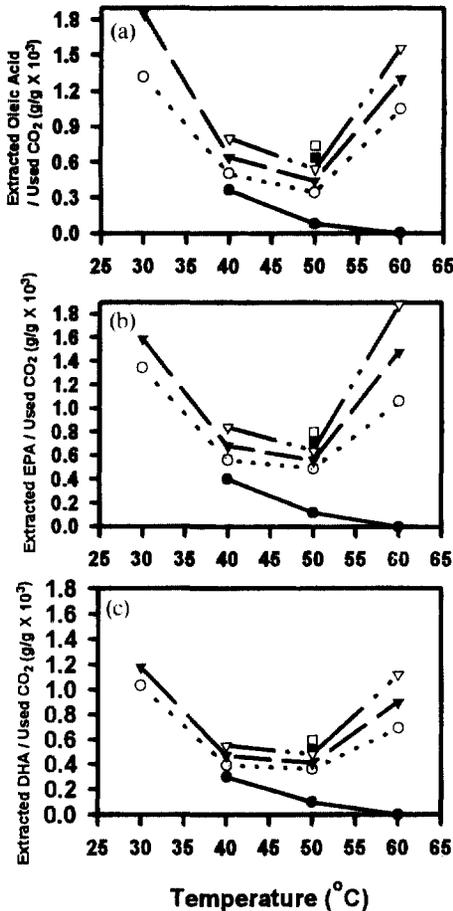


Fig. 7. The effects of extraction temperature on the solubility of extracted fatty acids in a supercritical fluid. (a) Oleic Acid (b) EPA (c) DHA ●: 100 bar, ○: 150 bar, ▼: 200 bar, ▽: 250 bar, ■: 300 bar, □: 350 bar.

수 있다. 위의 실험 결과에 의하면 EPA와 DHA를 추출지방산 내로 농축시키기 위해서는 추출온도를 임계 온도 근방의 값으로 유지시켜야 함을 알 수 있다. 또한 추출온도 50°C에서는 지방산의 종류에 관계없이 용해도가 최소의 값을 나타내어 50°C가 역행응축의 거의 마지막 온도임을 알 수 있다. 추출온도가 50°C를 상회하게 되면 물고기 기름을 구성하고 있는 각 지방산의 용해도가 다시 상승하는 비역행응축(non-retrograde condensation) 현상을 나타내었다.

## 결론

식품과 의약품 제조에 주로 사용되는 고가의 EPA와 DHA를 물고기 기름으로부터 초임계 유체 CO<sub>2</sub>를

사용하여 추출하기 위해서 초임계 유체 CO<sub>2</sub>의 유속과 부피, 온도, 압력 등이 물고기 기름내 EPA와 DHA와 다른 지방산들의 추출특성에 미치는 영향을 조사하였다. 물고기 기름을 구성하고 있는 지방산들의 추출농도는 CO<sub>2</sub>의 유속이 감소할수록추출에 사용된 CO<sub>2</sub>의 부피가 적을수록 완만하게 증가하는 경향을 나타내었다. 유속과 부피의 조합 16가지에 대한 실험결과로부터 Fig. 2와 Fig. 3의 외삽 과정을 이용하여 추출되는 지방산들의 용해도 값을 구하였다. 일정한 온도에서는 압력이 증가할수록 용해도는 증가하는 경향을 보였으며 추출압력이 120 bar이하인 경우에서는 온도가 증가할수록 용해도가 감소하는 경향을 보였다. 추출 온도는 일정하게 고정시키고, 압력변화가 용해도에 미치는 영향을 살펴보면 압력이 증가하면 지방산의 종류에 관계없이 모두 용해도가 증가하였다. 추출압력이 일정한 경우, 추출온도와 용해도에 미치는 영향을 분석하여 보면 추출압력 120 bar 이하에서는 추출 온도가 증가하면 용해도가 감소하는 역행응축현상을 나타내었다. 그러나 추출압력을 150 bar 이상으로 고정시키면 온도 30°C내지 50°C사이에서는 온도증가에 따라서 용해도가 감소하는 역행응축현상을 나타내었으나 50°C이상에서는 온도증가에 따라 용해도가 증가하는 비역행응축현상이 발생하였다. 위의 실험결과로부터 EPA와 DHA의 용해도를 증대시키기 위해서는 추출온도는 CO<sub>2</sub> 임계점 근방인 30°C 근방의 값으로 압력은 200 bar 내지 250 bar로 유지하는 것이 필요하다. 또한 추출온도 50°C에서 추출공정을 수행하면 EPA와 DHA는 잔류지방산내에 농축시킬 수 있으며 초임계 유체 추출 공정에 적용할 경우, 일정한 온도에서 압력을 감소시키거나 역행응축영역에서 압력을 일정하게 고정시키고 온도를 높이면 초임계 유체와 용질을 분리할 수 있다는 결론에 이르게 된다.

## 감사의 글

본 연구는 1996년도 인 하대학교 대학원생 연구장학금 지원에 의하여 수행되었습니다. 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

- Chow, C.K. 1992. Fatty Acids in Foods and Their Health Implications. Marcel Dekker, Inc. pp169-184.
- Dziewak, J.D. 1986. Innovative Separation Process Finding It's way into the Food Industry. *Food Technology*. June: 66-69.
- Eisenbach, W. 1984. Supercritical Fluid Extraction: A Film Demonstration. Ber. Busenges Phys, Chem. 88:

- 882-887.
- Hara, A. and N.S. Radin. 1978. Lipid Extraction of Tissues with a Low Toxicity Solvent. *Analytical Biochemistry*. **90**: 420-426.
- Hoyer, G.G. 1985. Extraction with Supercritical Fluids: Why, How, and So What. *Chemtech*, **July**: 440-448.
- Lepage, G., and C.G. Roy. 1984. Improved Recovery of Fatty Acid through Direct Transesterification without Prior Extraction or Purification. *J. of Lipid Research*. **25**: 1391-1396.
- McHugh, M. 1986. *Recent Developments in Separation Science*. CRC Press Boca Raton, FL. 9: pp75-105.
- Moffat, C.F., A.S. McGill, R. Hardy and R.S. Anderson. 1993. The Production of Fish Oil enriched in Polyunsaturated Fatty Acid Containing Triglycerides. *JAOCS*. **70**(2): 133-138.
- Nilson, W.B., E.J. Gauglitz, J.K. Stout, and J. Spinelli. 1988. Solubility of Simple and Mixed Triglycerols in Supercritical CO<sub>2</sub>. *JAOCS*. **65**(1): 109-116.
- Rizvi, S.S.H., A.L. Benado, J.A. Zollweg, and J.A. Daniels. 1986. Supercritical Fluid Extraction: Operating Principles and Food Application. *Food Technology*. **June**: 55-65.
- Rizvi, S.S.H., R.R. Chao and Y.J. Liaw. 1988. Supercritical Fluid Extraction and *Chromatography: Techniques and Applications*. ACS Symposium Series, Washington. pp89-108.
- Westwood, S. A. 1993. Supercritical Fluid Extraction its use in chromatographic sample preparation. CRC Press, Inc. pp 30-38.
- Williams, D.F. 1981. Review Article Number: Extraction with Supercritical Gases. *Chemical Engineering Science*. **36**(11): 1769-1788.