J. Aquaculture
Vol. 21(4), 226-233, 2008

한국양식학회지
Journal of Aquaculture
©Korean Aquaculture Society

수분함량과 저장온도에 따른 배합사료의 지방산화 및 지방산 조성 변화

장미순*, 김경덕, 김강웅, 이종윤, 강용진
국립수산과학원 양식사료연구센터

The Changes of Lipid Oxidation and Fatty Acid Composition of Extruded Pellet Feed by Dietary Moisture Level and Storage Temperature

Mi-Soon Jang*, Kyoung-Duck Kim, Kang-Woong Kim, Jong Yun Lee and Yong Jin Kang
Aquafeed Research Center, National Fisheries Research & Development Institute, Pohang 791-923, Korea

This study investigated the effects of dietary moisture level and storage temperature on lipid oxidation and fatty acids composition of the extruded pellet feed. The diets containing the moisture levels of 5%, 15% and 25% were prepared by adding moisture (water) to the commercial extruded pellets and stored at 5°C, 20°C (room temperature) and 35°C. The samples for analysis were collected at every 2 days for 10 days. Acid value (AV), peroxide value (POV), 2-thiobarbituric acid (TBA) value and fatty acid composition of the feeds were measured. No differences in the AV, POV and TBA value were observed in feed containing 5% moisture at all storage temperatures for 10 days. However, the AV, POV and TBA value of diets containing 15% and 25% moisture increased rapidly at 20°C and 35°C after 4 days. Fatty acids compositions of feeds containing 5% moisture did not change during the storage periods at 5°C and 20°C. However, 5% moisture feed stored at 35°C increased monoene fatty acid content and decreased the contents of polyene fatty acid, PUFA (polyunsaturated fatty acid)/SFA (saturated fatty acid) and $(C_{20:5}+C_{22:6})/C_{16:0}$ after 4 days. Also, 15% moisture feed stored at 35°C showed increased monoene fatty acid content and decreased $(C_{20:5}+C_{22:6})/C_{16:0}$ after 2 days. The diet containing 25% moisture showed increased monoene fatty acid content and decreased contents of PUFA, PUFA/SFA and $(C_{20:5}+C_{22:6})/C_{16:0}$ at all temperatures after 2 days. In this study, lipid oxidation can occur in the extruded pellet feeds of 15% and 25% moisture at room temperature after 2 days.

Keywords: Extruded pellet, Moisture, Acid value, Peroxide value, Fatty acid

서 론

최근에는 넙치 양어장에서 가공, 유통 및 환경적으로 많은 문제점이 대두되고 있는 생사료(MP) 대신 배합사료(EP)를 공급하는 비율이 점차 늘어가고 있다. 하지만, 양식현장에서는 제조된 EP를 그대로 공급하지 않고 EP에 비타민, 소화제 및 간기능 개선제 등의 각종 첨가제와 함께 물을 흡착시켜 습사료화 한 배합사료 형태로 공급하는 경우가 많다. 이러한 현상은 수분함량이 높은 배합사료는 물성이 부드러워 소화불량이나 복부팽창 등으로 인한 복수현상을 방지한다는 양어민들의 막연한 인식과 아울러 배합사료를 제조하여 판매하는 사료회사에서도 습사료화 한 배합사료의 사용으로 소화불량 등을 해소할 수 있다고 양어민들에게 권하고 있기 때문이다. 수분을 흡착시켜 습사료화 한 배합사료는 양어가들의 판단에 의해 제조되어 공급되고 있으나 저장하는 과정에서 오히려 곰팡이나 지질산화 등에 의한 영양성분의 변화가 우려되므로 이에 대한 검증이 절실히 필요하다. 또한, 배합사료 제조시 사용되는 어유는 DHA와 EPA 등 필수지방산을 공급하는데 중요한 역할을 하지만, 대부분 불포화 지방산 형태로 존재하여 쉽게 산화 될 수 있다. 지질 산화는 온도, 산소, 광선, 금속 및 수분 등과 같은 인자에 의해 영향을 받으며, 온도가 높고 수분함량이 많아질수록 유리라디칼의 형성이 촉진되어 산화진행 속도가 촉진된다고 알려져 있다(Chae et al., 2005). 특히, 불포화지방산을 다량 함유하고 있는 경우에는 쉽게 산화하여 과산화물을 형성하고 산화분해와 중합반응에 의해 산패취의 발생과 독성을 유발시킨다(Son et al., 1998). 불포화지방산 산패에 의한 과산화지질 및 알데히드 형성 등의 문제점들은 어류의 체내에서 독성을 나타내기 때문에 심할 경우 양식어류의 폐사가 일어날 수 있다고 보고된 바 있다(Smith, 1979; Lee, 1993). 또한, Min and Chun (1990)은 배합사료를 장기간 보관한 것이나 산화된 것을 공급하게 되면 잉어는 성장이 저하

*Corresponding author: suni@nfrdi.go.kr

되거나 정지되면서 체색이 검어져 한두마리씩 죽게 된다고 보고하였다. 이처럼 산화된 배합사료의 공급이 어류에 미치는 영향에 대해서는 보고되어져 있으나, 수분함량이나 저장온도에 의한 배합사료의 영양적 손실 등과 관련해서 보고한 연구결과를 찾아보기 힘들다.

본 연구에서는 시중에 판매되고 있는 상품사료에 수분함량을 다르게 흡착시켜 습사료화 한 배합사료를 각각 다른 온도에 저장하면서 배합사료 내 지방의 산화정도와 지방산 조성의 변화를 측정하고, 이 결과를 토대로 수분함량에 따른 배합사료의 적절한 사용기한을 예측해 보고자 하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

시중에 판매되고 있는 상품사료에 물을 첨가하여 수분함량이 5%, 15% 및 25%가 되게 조절한 배합사료를 실험재료로 사용하였다. 2-thiobarbituric acid는 Tokyo Kasei Kogyo Co., Ltd. (Tokyo, Japan)로부터 구입하였고, thiobarbituric acid의 측정에 사용한 TBA용액은 증류수 100 mL에 2-thiobarbituric acid 0.6 g을 가온해서 완전히 녹이고 식힌 후 빙초산 100 mL 가한 것을 사용하였다.

배합사료의 지방산화 및 성분분석

수분함량이 5%, 15% 및 25%인 배합사료를 각각 10개의 밀폐용기에 담고, 5°C, 20°C(실온) 및 35°C의 각각 다른 온도에 10일 동안 저장하면서 이틀간격으로 시료를 채취하여 배합사료의 지방산화 정도를 측정하였다. 배합사료의 일반성분은 AOAC (1990)의 방법에 따라 수분은 105°C의 dry oven에서 6시간 건조 후 측정하였고, 조단백질(N×6.25)은 Auto Kjeldahl System (Bunchi B-324/435/124, Switzerland; Metrohm 8-719/806, Switzerland)을 사용하여 분석하였고, 조지방은 ether를 사용하여 추출하였으며, 조회분은 550°C의 회화로에서 4시간 태운 후 측정하였다.

과산화물가(POV) 및 산가(AV)의 측정

분쇄한 배합사료 5.0 g을 정확히 250 mL 삼각플라스크에 취한 후, chloroform:acetic acid (2:3, v/v) 혼합용액 30 mL를 가하여 녹이고 여과지로 여과하였다. 이 여과액에 무수 Na_2SO_4을 넣은 후 재여과하고, 여과액에 KI포화용액 1 mL를 가한 다음 마개를 하고, 1분간 심하게 흔든 후, 5분간 어두운 곳에 방치하였다. 여기에 물 70 mL를 가하고 마개를 한 다음 심하게 흔들어 전분용액을 지시약으로 하여 0.01N $Na_2S_2O_3$용액으로 적정하였는데 용액의 청남색이 완전히 무색으로 될 때를 종말점으로 하여 과산화물가(POV)를 측정하였다. 산가(AV)는 분쇄한 배합사료 3.0 g을 정확히 취해 200 mL 삼각플라스크에 넣고 ether:ethanol (1:1, v/v) 혼합용액 100 mL를 가하여 녹인 다음 1% phenolphthalein 용액 2~3방울을 가하고 0.1N KOH-ethanol 용액으로 적정하였다. 용액이 미홍색으로 30초간 지속될 때를 종말점으로 하여 산가(AV)를 측정하였다.

Thiobarbituric acid (TBA)의 측정

TBA의 측정은 Sidewell et al. (1954)의 방법에 따라 측정하였다. 즉, 분쇄한 배합사료 3.0 g을 취하고 benzene 10 mL를 가해 homogenizer로 교반한 후 여과하였다. 여액을 마개가 있는 시험관 (2.5 cm×20 cm)에 옮겨 TBA 용액 10 mL를 가해 voltex를 행한 후 30분간 가열하였다. 냉각시킨 후 530 nm에서 흡광도를 측정하였고, 배합사료 대신 benzene만을 첨가한 것을 대조구로 하였다. TBA (%) = (실험구 흡광도-대조구 흡광도)×100

지방산 분석

Folch et al. (1957)의 방법으로 총지방을 추출하였다. 시료 중량에 대하여 4배량의 chloroform:methanol 혼합용매 (2:1, v/v)를 가하여 homogenizer로 2분간 교반한 후, 무수 Na_2SO_4을 넣고 여과지로 여과하였다. 여과액을 정량한 플라스크에 넣고 evaporator로 용매를 제거하여 배합사료 성분 중 지질을 추출하였다. 추출한 지질은 14% BF_3-methanol (Sigma Chemical Co., USA) 2 mL를 가하고 30분간 85°C에서 가열시킨 다음, 석유 ether로 추출하여 지방산 분석용 시료로 사용하였다. GC 분석 조건은 HP-INNOWax capillary column (30 m×0.32 mm i.d., film thickness 0.5 μm , Hewlett-Packard, USA)이 정착된 gas chromatography (HP6890, USA)로 carrier gas는 helieum을 사용하였다. Injector와 detector(FID) 온도는 각각 250°C, 270°C로 설정하였고, oven 온도는 170°C에서 225°C까지 1/min 증가시켰다. 각 지방산은 동일조건에서 표준지방산 methyl ester mixture (Sigma Chemical Co., USA)와 retention time을 비교하여 동정하였으며 함량은 각 peak의 면적을 상대적인 백분율로 나타내었다.

결과 및 고찰

일반성분

상품사료에 물을 첨가하여 수분함량이 5%, 15% 및 25%가 되게 조절한 배합사료의 일반성분을 조사한 결과는 Table 1과 같다. 수분함량이 5%, 15% 및 25%인 배합사료의 조단백질 함

Table 1. Proxiamte composition of extruded pellet with various moisture contents

Composition (%)	Moisture contents		
	5%	15%	25%
Moisture	5.84±1.0	15.8±0.1	25.4±0.1
Crude protein	49.75±0.4	43.8±0.06	39.45±0.2
Crude lipid	24.1±0.09	20.5±0.06	18.6±0.07
Ash	10.14±0.03	8.86±0.01	8.09±0.01

량은 각각 49.75%, 43.80% 및 39.45%였고, 조지방 함량은 각각24.10%, 20.50% 및 18.60%였다.

산가(acid value)의 변화

산가는 가수분해로 형성된 유리지방산의 함량을 나타내는데 유리지방산은 자동산화를 촉진하여 지질의 품질을 저하시킨다(Shin and Kim, 1954). 상품사료에 물을 첨가하여 수분함량이 5%, 15% 및 25%가 되게 조절한 배합사료를 5℃, 20℃ 및 35℃의 각각 다른 온도에 10일간 저장하는 동안 배합사료 지질의 산가 변화를 Fig. 1에 나타내었다. 수분함량이 5%인 배합사료는 저장온도에 상관없이 산가에 변화가 없었으나, 수분함량이 15% 및 25%인 배합사료를 5℃ 저장한 경우는 저장 8일 이후부터 산가가 증가하였다. 또한, 수분함량이 15%인 배합사료를 20℃ 및 35℃에 저장한 경우는 저장 4일 후부터 서서히 산가가 증가하기 시작하여 저장일수 6, 8, 10일에 각각 5.16, 7.64, 19.35 및 9.29, 12.43, 28.90으로 증가하였다. 아울러 수분함량이 25%인 배합사료를 20℃ 및 35℃에 저장한 경우는 저장 4일 이후부터 저장일수 6, 8, 10일에 각각 6.50, 14.06, 32.00 및 9.00, 16.09, 39.38을 나타내어 수분함량 15%인 배합사료보다 더욱 급속하게 산가가 증가함을 알 수 있었다.

과산화물가(peroxide value)의 변화

과산화물가는 지질이 산화되는 과정 중에 형성된 1차 산화생성물인 과산화물의 함량을 나타내는 것으로, 과산화물은 쉽게 분해되어 aldehyde, ketone, 및 alcohol류 등의 휘발성 유독물질을 생성한다(Chae et al., 2005). 과산화물가는 지질산화의 초기단계에서 산패도와 관련이 있고, 산화 속도를 비교하는데 유리한 지표(Min and Lee, 1985; Jung et al., 2004)로 많이 활용되고 있다. 상품사료에 물을 첨가하여 수분함량이 5%, 15% 및 25%가 되게 조절한 배합사료를 5℃, 20℃ 및 35℃의 각각 다른 온도에 10일간 저장하는 동안 배합사료 지질의 과산화물가 변화는 수분함량이 5%인 배합사료의 경우 저장온도가 높아질수록 과산화물가도 서서히 증가하였다 (Fig. 2). 20℃에 저장한 수분함량 25% 배합사료의 과산화물가는 실험시작시 69 meq/kg이였으며, 저장 4일 이후부터 급격하게 증가하여 저장일수 8

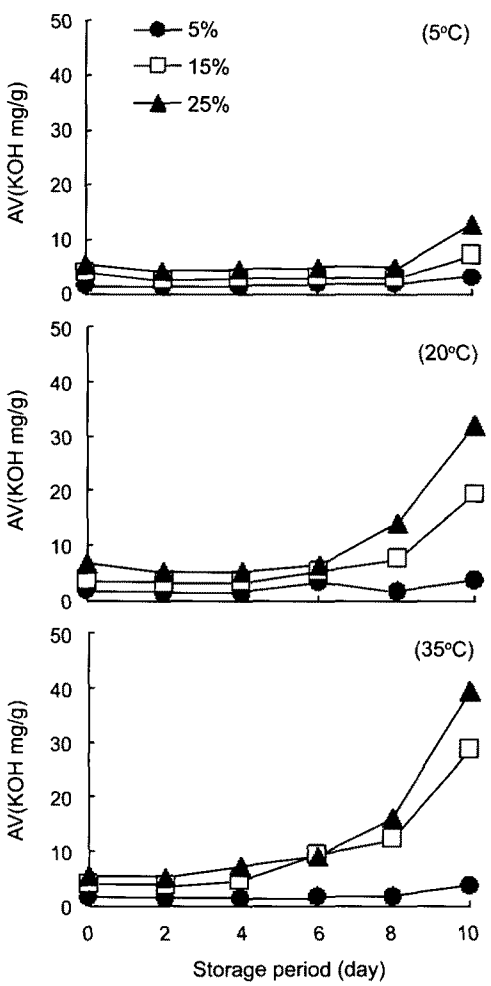

Fig. 1. Changes of acid value (AV) in extruded pellet with various moisture contents stored at 5°C, 20°C and 35°C.

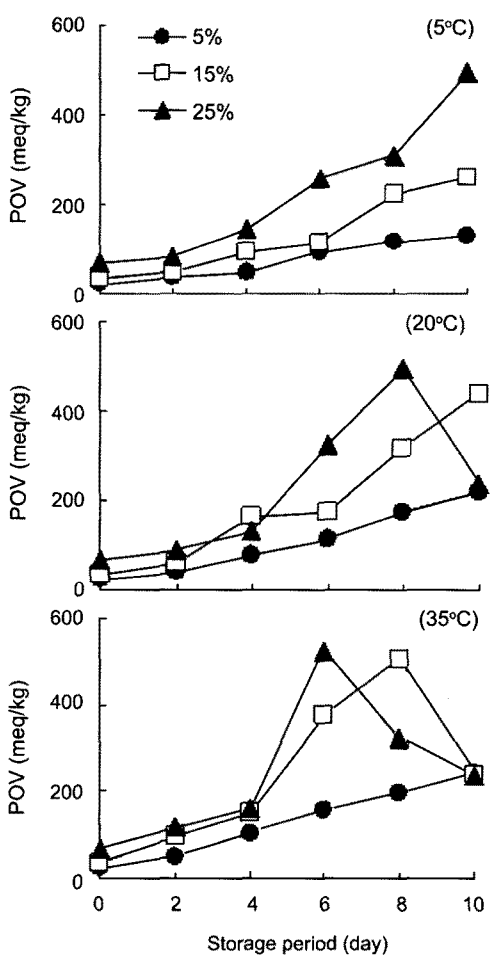

Fig. 2. Changes of peroxide value (POV) in extruded pellet with various moisture contents stored at 5°C, 20°C and 35°C.

일째에 495 meq/kg으로 7배 이상 증가하였다가 저장 10일째는 감소하였다. 또한, 수분함량이 15% 및 25%인 배합사료를 35°C에 저장한 경우도 저장 4일 이후부터 과산화물가의 급격한 증가를 보이기 시작해서, 각각 저장 8일 및 6일에 508 meq/kg 및 526 meq/kg으로 최대값을 나타내었다가 점차 감소하여 저장 10일째에 238 meq/kg으로 유지되었다. 본 실험에서 수분함량이 높은 배합사료 (15% 및 25%)는 저장온도가 높을수록 급격하게 과산화물가가 증가하다가 감소하는 경향을 나타냄을 알 수 있었다. 이와 같이 과산화물가가 증가하다가 저장일이 지나면서 감소하는 이유는 hydroperoxide 중간생성물이 계속 산화, 분해되어 carbonyl compounds, acid 및 polymeric substance로 알려진 산화의 최종 생성물을 다량 형성하면서 과산화물의 생성속도보다 분해속도가 빨라지기 때문(Min and Lee, 1985)으로 생각된다.

TBA (2-Thiobarbituric aicd)값의 변화

TBA가는 생성된 malonaldehyde와 2-thiobarbituric acid와의 적색복합체를 생성하는 정색반응으로 지질의 산패도를 알아보는 방법이다. 2차 산화생성물 중 특히 malonaldehyde의 생성정도를 나타내는 배합사료 지질의 TBA 값을 측정한 결과는 Fig. 3과 같다. 수분함량 5%, 15% 및 25%인 배합사료의 TBA 값은 0일째 각각 722, 862 및 932로 높은 값을 나타내었다. 이는 malonaldehyde를 3개 또는 2개 이상의 이중결합을 가지는 고도불포화지방산의 두 번째 산화 생성물이 많은 구에서 TBA 값이 높다고 보고(Dahle et al., 1962)한 결과와 Cherian et al. (1996)이 청어유, 아마인류, 해바라기유, 팜유를 사료에 첨가하여 공급한 계육의 TBA값이 가장 높았다고 보고한 결과와 일치한다고 보여진다. 즉, 본 실험결과에서처럼 0일째 TBA값이 높은 것은 배합사료에 사용된 어유에 고도불포화지방산이 많이 함유되어 있기 때문이라 생각된다.

수분함량 및 저장온도에 따른 배합사료 지질의 TBA값은 산가 및 과산화물가를 측정한 결과와 유사하였다. 즉, 실험에 사용한 모든 저장온도에서 배합사료 내 수분함량이 많아질수록 높은 TBA값을 나타내었다. 극소량의 수분도 free radical의 출처로서 자동산화과정의 초기반응을 촉진시켜 준다(Tarladgis et al., 1960)고 하는데, 본 실험에서도 5% 수분 함유 배합사료보다 15% 및 25% 수분을 함유한 배합사료가 많은 양의 수분을 함유한 결과로 지질 산패에 더 많은 영향을 받아 TBA값이 높아진 것으로 생각된다. 또한, Cho and Park (2000)도 이와 유사한 연구결과를 보고하였는데, 붕장어육에 사용된 양파즙과 마늘즙의 수분함량이 각각 84.9%와 65.66%로 첨가물 자체가 함유하고 있는 수분이 많았으므로 양파즙과 마늘즙을 10% 첨가한 것이 5% 첨가한 것보다 대체로 높은 TBA값을 나타낸다고 하였다.

한편, 35°C에 저장한 수분 함량 25%인 배합사료의 TBA값은 저장 2일 이후부터 급격하게 증가하여 저장 6일째에 1930

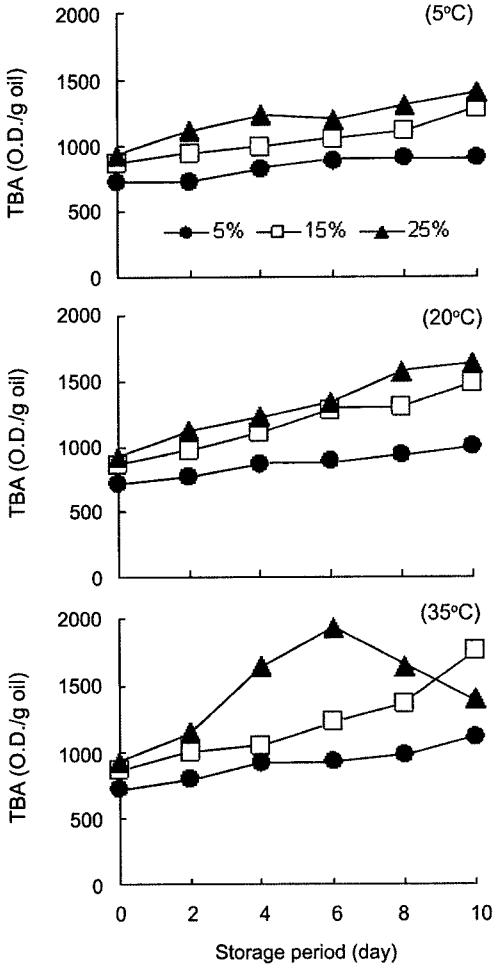

Fig. 3. Changes of 2-thiobarbituric acid (TBA) value in extruded pellet with various moisture contents stored at 5°C, 20°C and 35°C.

으로 최대값을 나타내었다가 점차 감소하였다. 이와 같은 현상에 대해 Laleye et al. (1984)은 저장초기에 지방산화에 의해서 malonaldehyde가 다량 생성되나, 일정시간 경과 후에는 malonaldehyde 생성이 감소되거나 분해 또는 histidine 등의 아미노산과 결합하여 TBA값이 감소한다고 하였다. 또한, Chen and Wailmaleongoraek (1981)에 의하면 TBA값은 시간의 경과, 저장온도, 지방산의 조성, 산소의 활성, 항산화제 등의 여러 요인에 의해 영향을 받는다고 보고하였다. 본 실험에서도 이러한 영향으로 TBA값이 증가하다가 저장일이 지나면서 감소한 것으로 사료된다.

지방산 조성의 변화

수분함량 및 저장온도에 따른 배합사료 지질의 지방산 변화를 Table. 2, 3 및 4에 나타내었다. 수분함량 및 저장온도에 상관없이 배합사료의 지방산은 palmitic acid ($C_{16:0}$), oleic acid ($C_{18:1}$) 및 docosahexaenoic acid ($C_{22:6}$)의 함유 비율이 높았다. 수분함량이 높은 배합사료의 경우 저장온도가 높고 저장일이 경과함에 따라 포화지방산(saturated fatty acid, SFA)의 함량은

Table 2. Changes of fatty acid composition in extruded pellet with 5%, 15% and 25% moisture contents during stored at 5°C

Storage at 5°C																		
Moisture	5%						15%						25%					
Storage day	0	2	4	6	8	10	0	2	4	6	8	10	0	2	4	6	8	10
14:0	3.07	2.90	2.51	3.03	3.03	2.87	1.63	1.86	1.75	2.19	2.09	2.08	1.77	1.69	1.63	1.70	1.67	2.12
16:0	19.79	19.70	18.97	19.84	18.35	18.73	20.77	21.03	19.99	20.17	19.75	19.21	19.92	20.54	21.53	22.34	22.14	20.58
18:0	5.37	5.50	5.24	5.59	4.95	5.41	6.14	6.06	5.96	5.77	5.93	5.75	5.97	5.38	5.76	5.80	5.77	6.10
SFA	28.23	28.10	26.72	28.46	26.33	27.01	28.54	28.95	27.70	28.13	27.77	27.04	27.66	27.61	28.92	29.84	29.58	28.80
16:1	4.07	4.18	3.78	4.15	4.29	4.26	2.47	2.63	2.72	3.00	3.04	3.15	2.61	2.72	2.51	2.12	2.16	3.08
18:1	13.10	13.02	15.65	13.58	16.20	16.45	10.53	11.30	13.54	14.12	14.08	14.39	10.88	12.98	12.71	13.15	12.86	14.71
20:1	4.66	4.63	3.82	5.18	4.99	4.84	1.60	3.07	2.53	3.06	3.29	3.24	2.97	2.31	2.19	2.23	2.09	3.32
22:1	3.14	2.97	2.98	3.55	3.36	3.76	1.20	1.81	1.48	1.68	1.76	2.39	1.68	1.49	1.23	1.11	0.98	2.14
Monoene	24.97	24.80	26.23	26.46	28.84	29.31	15.80	18.81	20.27	21.86	22.17	23.17	18.14	19.50	18.64	18.61	18.09	23.25
18:2	9.52	10.00	9.60	9.66	8.42	8.81	13.69	13.10	12.61	12.92	12.03	11.22	12.46	13.43	14.46	15.26	15.23	12.61
18:3	1.08	1.41	1.05	1.16	1.26	1.05	1.53	1.55	1.22	1.21	1.44	1.14	1.16	1.31	1.36	1.39	1.38	1.53
20:3	1.29	1.33	1.32	1.32	1.18	1.22	1.61	1.54	1.51	1.48	1.48	1.39	1.56	1.41	1.45	1.46	1.47	1.56
20:4	0.63	0.63	0.55	0.64	0.58	0.59	0.52	0.59	0.52	0.56	0.55	0.52	0.56	0.55	0.54	0.00	0.55	0.58
20:5	8.93	9.17	8.52	9.29	8.69	8.93	7.30	7.81	7.34	7.76	7.64	7.53	7.46	7.34	6.81	7.23	6.80	7.87
22:2	0.00	0.48	1.37	0.76	1.86	0.56	0.54	1.05	0.97	0.73	0.50	0.44	0.67	3.03	2.32	2.478	2.79	0.69
22:3	0.55	0.58	0.52	0.52	0.67	0.50	0.68	0.65	0.67	0.65	0.68	0.67	0.70	0.58	0.58	0.00	0.50	0.78
22:5	2.03	1.65	1.69	1.58	1.48	1.59	2.55	1.76	1.77	1.66	1.71	1.79	2.28	1.68	1.66	1.43	1.60	1.93
22:6	22.77	21.83	22.42	20.14	20.67	20.43	27.24	24.21	25.42	23.03	24.03	25.07	27.34	23.59	23.27	22.29	22.01	20.41
Polyene	46.80	47.08	47.04	45.07	44.81	43.68	55.66	52.26	52.03	50.00	50.06	49.77	54.19	52.29	52.45	51.45	52.33	47.96
PUFA/SFA	1.66	1.68	1.76	1.58	1.70	1.62	0.95	0.84	0.92	1.78	0.87	0.93	1.96	1.92	1.81	1.73	1.77	0.71
$(C_{20:5}+C_{22:6})/C_{16:0}$	1.15	1.11	1.18	1.02	1.13	1.09	1.31	1.15	1.27	1.14	1.22	1.31	1.37	1.15	1.08	1.00	0.99	0.99

Table 3. Changes of fatty acid composition in extruded pellet with 5%, 15% and 25% moisture contents during stored at 20°C

Storage at 20°C																		
Moisture	5%						15%						25%					
Storage day	0	2	4	6	8	10	0	2	4	6	8	10	0	2	4	6	8	10
14:0	2.80	2.76	2.71	2.84	3.27	3.58	1.68	1.80	1.81	3.94	4.04	4.28	1.44	1.88	1.92	2.05	2.44	4.06
16:0	20.78	20.48	19.44	20.05	19.81	19.66	22.53	21.17	21.68	17.39	15.77	17.22	20.77	21.04	20.24	21.12	20.57	18.31
18:0	5.59	5.72	5.39	5.72	5.32	4.99	5.96	6.27	6.27	4.13	3.54	3.79	6.06	5.66	5.95	5.51	5.23	4.03
SFA	29.17	28.96	27.54	28.61	28.40	28.23	30.17	29.24	29.76	25.46	23.35	25.29	28.27	28.58	28.11	28.68	28.24	26.40
16:1	3.69	3.94	3.64	3.52	4.60	5.07	2.54	2.66	2.67	5.54	5.82	5.96	2.17	2.53	2.68	3.12	3.55	6.60
18:1	12.80	12.88	15.75	15.72	13.58	13.89	10.62	11.03	10.91	19.47	20.64	21.07	9.81	11.04	11.07	11.78	15.79	16.08
20:1	2.67	4.32	4.24	4.08	4.95	5.07	2.17	2.65	2.61	7.70	9.21	9.68	1.77	1.73	2.99	3.19	3.93	7.47
22:1	2.14	2.69	2.57	2.27	3.74	3.44	1.21	1.41	1.32	6.15	8.71	8.25	0.60	1.13	1.44	1.79	2.38	5.62
Monoene	21.30	23.83	26.20	25.59	26.87	27.47	16.54	17.75	17.51	38.86	44.38	44.96	14.35	16.43	18.18	19.88	25.45	35.77
18:2	10.63	10.70	10.09	10.10	9.20	8.95	15.44	13.59	14.13	6.96	4.92	4.95	14.49	13.78	12.24	13.53	12.78	8.33
18:3	1.10	1.48	1.35	1.06	1.42	1.35	1.41	1.56	1.30	1.14	1.01	1.03	1.29	1.33	1.15	1.63	1.29	1.45
20:3	1.40	1.43	1.26	1.38	1.28	1.30	1.49	1.60	1.61	0.94	0.85	0.76	1.58	1.44	1.53	1.44	1.29	0.91
20:4	0.60	0.62	0.60	0.57	0.64	0.00	0.54	0.54	0.54	0.58	0.68	0.63	0.50	0.56	0.57	0.61	0.54	0.64
20:5	8.81	8.98	8.69	8.97	9.51	10.38	7.18	7.50	7.45	8.99	10.45	9.75	6.69	7.26	7.67	7.76	7.33	9.08
22:2	0.26	0.00	0.44	0.68	0.00	0.00	2.19	0.42	0.53	0.32	0.00	0.46	0.86	0.89	0.43	1.71	1.52	1.21
22:3	3.11	0.65	0.58	0.68	0.54	0.48	0.57	0.68	0.66	0.33	0.30	0.25	0.63	3.10	2.44	0.58	0.46	0.31
22:5	2.07	1.67	1.60	1.57	1.54	1.54	1.60	2.01	1.73	1.26	1.37	1.28	3.51	4.17	2.32	1.70	1.96	1.40
22:6	21.54	21.66	21.65	20.78	20.61	20.28	22.86	25.10	24.80	15.15	12.68	10.65	27.84	22.48	25.34	22.49	19.14	14.50
Polyene	49.52	47.19	46.26	45.79	44.74	44.28	53.28	53.00	52.75	35.67	32.26	29.76	57.39	55.01	53.69	51.45	46.31	37.83
PUFA/SFA	1.70	1.63	1.68	1.60	1.58	1.57	1.77	1.81	1.77	1.40	1.38	1.18	2.03	1.92	1.91	1.79	1.64	1.43
$(C_{20:5}+C_{22:6})/C_{16:0}$	1.46	1.50	1.56	1.48	1.52	1.56	1.33	1.54	1.49	1.39	1.47	1.18	1.66	1.41	1.63	1.43	1.29	1.29

Table 4. Changes of fatty acid composition in extruded pellet with 5%, 15% and 25% moisture contents during stored at 35°C

Storage at 35°C																		
Moisture	5%						15%						25%					
Storage day	0	2	4	6	8	10	0	2	4	6	8	10	0	2	4	6	8	10
14:0	2.33	2.90	3.15	2.74	3.26	3.89	1.71	1.55	1.98	1.98	2.14	4.07	1.99	1.91	2.63	2.62	3.54	3.98
16:0	20.17	19.99	18.63	18.96	18.83	18.53	21.48	19.88	19.44	20.60	20.52	18.56	19.92	19.21	19.66	21.37	16.73	17.03
18:0	5.64	5.51	4.97	5.27	5.12	4.82	5.79	5.98	5.31	5.34	4.88	4.38	6.01	5.79	5.09	5.01	4.09	3.88
SFA	28.14	28.40	26.75	26.97	27.21	27.24	28.98	27.41	26.73	27.92	27.54	27.01	27.92	26.91	27.38	29.00	24.36	24.89
16:1	3.39	4.08	4.36	4.07	4.66	5.38	2.58	2.47	3.16	3.33	3.48	5.77	2.89	2.86	4.10	4.15	5.75	6.10
18:1	12.05	12.75	12.75	16.11	16.39	18.72	10.71	12.71	13.89	14.00	14.66	16.34	11.29	14.09	12.71	13.05	19.54	19.95
20:1	3.69	4.51	4.96	4.38	4.84	7.16	1.90	2.21	2.78	2.77	3.08	8.02	3.29	2.95	4.76	3.90	8.05	8.86
22:1	2.20	2.74	3.71	3.36	3.99	6.19	0.95	1.59	1.92	1.68	1.60	6.93	2.12	2.09	3.22	2.31	7.42	7.97
Monoene	21.33	24.08	25.78	27.92	29.88	37.45	16.14	18.98	21.75	21.78	22.82	37.06	19.59	21.99	24.79	23.41	40.76	42.88
18:2	10.87	10.29	8.71	9.28	8.36	6.28	14.17	12.69	11.78	13.00	13.50	7.06	12.18	11.64	11.09	12.15	6.40	5.87
18:3	1.41	1.45	1.30	1.06	0.99	1.00	1.33	1.23	1.18	1.29	1.34	1.15	1.49	1.16	1.46	1.62	1.09	1.04
20:3	1.41	1.34	1.18	1.28	1.14	0.69	1.52	1.49	1.36	1.38	1.27	0.94	1.52	1.43	1.37	1.27	0.90	0.74
20:4	0.58	0.63	0.60	0.59	0.57	0.63	0.56	0.51	0.50	0.54	0.59	0.59	0.60	0.53	0.59	0.64	0.59	0.53
20:5	8.07	8.97	8.82	8.73	9.05	9.65	7.43	7.14	7.12	7.10	7.40	9.38	7.76	7.42	8.43	7.60	9.51	8.96
22:2	0.44	0.72	0.00	0.59	0.76	0.51	1.37	1.75	1.01	1.50	2.83	0.34	0.31	0.54	1.54	1.774	0.37	0.71
22:3	0.58	0.56	0.48	0.53	0.48	0.35	2.49	0.68	0.72	0.59	0.45	0.37	1.20	1.16	0.54	0.48	0.33	0.28
22:5	2.23	1.62	1.59	1.62	1.56	1.34	2.30	1.82	1.89	1.74	1.52	1.40	1.72	1.80	1.81	1.65	1.42	1.37
22:6	24.92	21.96	24.78	21.44	19.99	14.87	23.72	26.29	25.95	23.17	20.71	14.71	25.71	25.41	20.98	20.44	14.26	12.74
Polyene	50.51	47.54	47.46	45.12	42.90	35.32	54.89	53.60	51.51	50.31	49.61	35.94	52.49	51.09	47.81	47.59	34.87	32.24
PUFA/SFA	1.79	1.67	1.77	1.67	1.58	1.30	1.89	1.96	1.93	1.80	1.80	1.33	1.88	1.90	1.75	1.64	1.43	1.30
$(C_{20:5}+C_{22:6})/C_{16:0}$	1.24	1.10	1.33	1.13	1.06	0.80	1.10	1.32	1.33	1.12	1.01	0.79	1.29	1.32	1.07	0.96	0.85	0.75

약간 감소하였고, 이중결합을 하나 가지는 불포화지방산(monoene) 함량은 지속적으로 증가하였으며, 이중결합을 2개 이상 가지는 불포화지방산(polyene)의 함량은 감소 폭이 더 큰 경향을 나타내었다. 이는 Ro (1988)에 의하면, 굴비 제조 중 지방산은 종류에 따라 차이는 있으나 지방질의 산화가 진행될수록 대부분 감소하는 경향을 보이는데, 이때 감소비율은 불포화 지방산이 포화지방산에 비하여 더 크다는 보고한 결과와 유사하였다. 수분함량이 높고 저장온도가 높을수록 배합사료의 불포화지방산인 폴리엔산 중에서 가장 큰 변화를 나타낸 것은 $C_{18:2}$와 $C_{22:6}$ 이었으며, 모노엔산 중에는 $C_{18:1}$이 증가하는 경향을 나타내었다. Cho and Park (2000)에 의하면 대멸치를 건조함에 있어서 건조 중 포화산과 모노엔산은 증가하였고 폴리엔산은 감소하는 결과를 나타내었다고 했는데, 이것은 대멸치에 많이 함유되어 있는 고도불포화지방산(polyunsaturated fatty acid, PUFA)이 산화되어 상대적으로 포화산 및 모노엔산의 비율이 증가된 것으로 판단된다고 하였다. Suh and Lee (1994)도 건조한 붕장어의 지방산 조성이 원료에 비하여 포화산과 모노엔산이 증가한 반면 폴리엔산이 감소한다는 보고가 있는데 본 실험결과도 이들과 유사한 경향을 보였다. 또한, 폴리엔산의 감소가 저장일수에 따라 수분함량 25% >15% >5%의 순으로 빠르게 진행되는 것으로 보아 배합사료 내 지질성분의 산화가 촉진됨을 예측할 수 있었는데, 이는 Cho et al. (2000)의 연구보고에서처럼, 대멸치의 건조조건에 따라 폴리엔산의 감소가 빠르게 진행됨으로 인해 대멸치의 지질 산화가 빠르게 촉진된다고 한 결과와 일치하였다. 더욱이 수분함량 5%인 배합사료의 경우, 5°C일 때 저장 10일경에 폴리엔산이 43.68이었고 35°C일 때 35.32를 나타낸 것으로 보아 저장온도가 높을수록 폴리엔산의 감소는 더욱 촉진됨을 알 수 있었고, 지질 산화 역시 빠르게 진행됨을 알 수 있었다.

한편, 저장일이 경과함에 따라 $C_{20:5}$의 함량에는 변화가 없었으나 $C_{22:6}$의 함량은 급격하게 감소하는 경향을 나타내었다 (Tables 2-4). 이것은 시료의 유분이나 수분 함량의 변화에 따라 methylester화의 정도가 다르기 때문이라 사료되며, $C_{20:5}$와 $C_{22:6}$의 절대량의 변동을 정확히 파악하고자 Takiguchi (1987)의 방법에 따라 불포화 지방산의 잔존율($C_{20:5}+C_{22:6}/C_{16:0}$)을 계산하였다. 5°C에 저장한 수분함량 5% 및 15%인 배합사료의 불포화 지방산 잔존율은 저장10일째까지도 차이가 없었으나, 수분함량 25%인 배합사료의 경우는 0일째 1.37에서 10일째 0.99로 감소하였다(Table 2). 20°C에 저장한 경우는 5% 수분함량 배합사료의 불포화지방산 잔존율에는 변화가 없었고, 수분함량 15% 및 25%인 배합사료는 저장 4일 이후부터 감소하는 경향을 보였다 (Table 3). 한편, 35°C에 저장한 배합사료의 경우는 수분함량에 상관없이 저장일이 경과함에 따라 불포화 지방산의 잔존율이 급격하게 감소하는 경향을 보였다(Table 4). 아울러, PUFA/SFA의 비율도 불포화지방산 잔존율을 조사한 결과와 유사하여 저장온도가 높고 수분함량이 높을수록 감소하는 폭이 큰 것으로

나타났다. 이것은 산화일수가 증가할수록 어유의 PUFA/SFA 비율이 지속적으로 감소한다고 보고한 Choi et al. (2004)의 결과와도 유사하였다.

앞서 설명한 배합사료 내 지질성분의 AV, POV 및 TBA 값의 변화 (Fig. 1-3)에서 보는 바와 같이, 이들 값은 배합사료의 수분함량이 높고 저장온도가 높아질수록 급격하게 증가하고 산화속도 또한 빠르게 진행되었다. 지방산 조성 변화도 배합사료의 수분함량이 높고 저장온도가 높아질수록 모노엔산의 함량은 증가하고 폴리엔산의 함량은 급격하게 감소하는 경향을 나타내어 산화가 빠르게 진행됨을 알 수 있었다. 즉, 이것은 배합사료의 지질 산화는 수분함량과 저장온도에 따라 현저한 영향을 받는다는 것을 의미하고 있다.

이상의 결과로부터, 수분함량이 적은 배합사료가 저장온도 및 저장일의 영향을 적게 받음으로서 지방산화면에 있어서도 영향이 적음을 알 수 있었다. 한편, 본 실험에 사용된 수분함량 15% 및 25%인 배합사료의 경우는 20°C(실온)에서 2일 이내에 사용하는 것이 지질산화에 의한 영양적 손실을 최소화 할 수 있을 것으로 사료되었다.

요 약

본 연구는 시중에 판매되고 있는 상품사료에 물을 첨가하여 수분함량이 5%, 15% 및 25%가 되게 조절한 배합사료를 5, 20(실온) 및 35°C의 각각 다른 온도에 10일 동안 저장하면서 이틀 간격으로 시료를 채취하여, 지방산화 정도를 알아보기 위해 AV, POV, TBA값 및 지방산 조성의 변화를 측정하였다. 또한, 이를 활용하여 수분함량에 따른 배합사료의 적절한 사용기한을 예측해 보고자 하였다.

5% 수분함유 배합사료의 경우는 모든 저장온도에서 저장 10일째까지 AV, POV 및 TBA값에 별다른 차이가 없었다. 그러나, 35°C에 저장한 수분함유 15% 및 25% 배합사료의 경우는 각각 저장 4일 및 2일 이후부터 AV, POV 및 TBA값이 급격하게 증가하였으며 그 변화 폭도 컸다.

한편, 수분함량이 5%인 배합사료를 5°C 및 20°C에 10일간 저장하는 동안 SFA, monoene 및 polyene의 지방산 함량에 별다른 변화는 없었으나, 수분함량이 15% 및 25%인 배합사료의 경우는 저장온도가 높고 저장일이 경과함에 따라 monoene의 함량은 지속적으로 증가하고, polyene의 함량은 급속하게 감소하였다. 또한, 수분함량 5% 배합사료를 20°C에 저장한 경우는 PUFA/SFA 비율 및 불포화지방산 잔존율($C_{20:5}+C_{22:6}/C_{16:0}$)에는 거의 변화가 없었으나, 수분함량 15% 및 25%인 배합사료는 저장 4일 이후부터 감소하였다. 35에 저장한 배합사료는 수분함량에 상관없이 저장 2일 이후부터 불포화지방산 잔존율이 급격하게 감소하였다. 이상의 결과로부터 수분함량 5%인 배합사료는 지질산화의 영향을 적게 받아 저장온도에 상관없이 다소 긴 기간동안 사용이 가능할 것으로 예측되었고, 수분함량이 15% 및 25%인 배합사료의 경우는 가급적이면 저온에서 사용하고, 20°C(실온)에서 사용하는 경우라면 2일 이내에 사용하는 것이 지질산화에 의한 영양적 손실을 최소화 할 수 있을 것으로 사료된다.

사 사

본 연구는 국립수산과학원(배합사료 표준화 및 품질관리 연구, RP-2008-AQ-037)의 지원에 의해 운영되었습니다.

참고문헌

AOAC (Association of Official Analytical Chemists), 1990. Official Methods of Analysis, 15th edition. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA, USA.

Chae, S. K., 2005. Food chemistry. (in) Kim S. H. (ed.), Prooxidants. Hyoil, Korea, pp. 158–162.

Chen, T. C. and C. Wailmaleongoraek, 1981. Effect of pH on TBA values of ground raw polut. meat. J. Food Sci., 46, 1946–1958.

Cherian, G., E. W. Wolfe and J. S. Sim, 1996. Dietary oils with added tocopherols effects on egg or tissue tocopherols, fatty acids and oxidative stability. Poultry Sci., 75, 423–431.

Cho, H. S. and B. H. Park, 2000. Effects of onion and garlic juice on the lipid oxidation and quality characteristics during the storage of conger eel (*Astroconger myriaster*). Kor. J. Soc., Food Sci., 16, 135-142.

Cho, Y.J., K.B. Shim, T.J. Kim, S.T. Kang, H.S. Lee and Y.J. Choi, 2000. Effects of drying conditions on lipid oxidation and fatty acid composition of large anchovy. J. Korean Fish. Soc. 33, 192–197.

Choi, S. M., J. W. Kim, K. M. Han, S. H. Lee and S. C. Bai, 2004. Preliminary studies on establishment of criteria to evaluate the quality of fish oil used in aquatic feed. J. Acuacult., 17, 139–143.

Dahle, L. K., E. G. Hill and R. T. Holman, 1962. The thiobarbituric acid reaction and the autoxidations of polyunsaturated fatty acid methyl esters. Arch. Biochem. Biophys., 98, 253–261.

Folch, J., M. Lees and G. H. Sloane Stanley, 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J. Biol. Chem., 226, 497–509.

Jung, B. M., G. H. Chung, M. S. Jang and S. U Shin, 2004. Quality characteristics of citron treated mackerel oil and fillet during refrigerated storage. Kor. J. Food Sci. Technol., 36, 574–579.

Laleye, C. L., R. E. Simard, B. H. Lee and R. A. Holley, 1984. Shelf life of vacuum- or nitrogen-packed pastrami: Effects of packaging atmospheres, temperature and duration of storage on microflora changes. J. Food Sci., 49, 827–832.

Lee, C. H., 1993. The development of ceroidosis in cultured flounder, *Paralichthys olivaceus*. J. Fish Pathol., 6, 143–161.

Min, B. A. and J. H. Lee, 1985. Effects of frying oils storage con-

ditions on the rancidity of Yackwa. Kor. J. Food Sci. Technol., 17, 114–120.

Min, E. S. and S. K. Chun, 1990. Effect of gutathione on the histopathological changes caused by oxidized diets in the carp, *Cyprinus carpio*. J. Fish Pathol., 3, 81–95.

Moerck, K. E. and H. R. Ball, 1974. Lipid autoxidation in mechanically deboned chicken meat. J. Food Sci., 39, 876–879.

Ro, R. H. 1988. Changes in lipid components of salted-dried yellow corvenia during processing and storage. Bull. Kor. Fish. Soc., 21, 217–224.

Shin, A. J. and D. H. Kim, 1954. Studies on thermal oxidation of soybean oil. J. Food Sci. Technol., 14, 257–264.

Sidewell, C. G., H. Salwin, M. Benca and J. H. Jr. Mitchell, 1954. The use of thiobarbituric acid as a measure of fat oxidation. J. Am. Oil Chem. Soc., 31, 603–606.

Smith, C. E., 1979. The prevention of liver lipoid degeneration (ceroidosis) and microcytic anaemia in rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson fed rancid diets: A preliminary report. J. Fish Dis., 2, 429–437.

Son, J. Y., H. S. Son and W. D. Cho, 1998. Antioxidant effect of onion skin extract. Kor. J. Soc. Food Sci., 14, 16–20.

Suh, J. S. and K. H. Lee, 1994. Studies in browning reaction in dried fish. Bull. Korean Fish. Soc., 27, 454–461.

Takiguchi, A. 1987. Lipid oxidation and hydrolysis in dried anchovy during drying and storage. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 53, 1463–1469.

Tarladgis, B. G., B. M. Watts, M. T. Younathan and L. R. Dugan, 1960. A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. J. Am. Oil Chem. Soc., 37, 44–48.

원고접수 : 2008년 8월 12일
심사완료 : 2008년 9월 26일
수정본 수리 : 2008년 10월 29일