

工学碩士 學位論文

효소를 이용한 SLP(Squid Liver Powder)
제조 공정 개선에 관한 연구



2003年 2月

釜慶大學校 大學院

食 品 工 學 科

林 哲 煥

林哲煥의 工學碩士 學位論文을 認定함

2002年 12月 26日

主 審 農學博士

李 養 鳳



委 員 工學博士

金 泰 辰



委 員 水産學博士

趙 永 濟



목 차

Abstract	1
I 서 론	3
II 재료 및 방법	8
1. 실험재료	8
가. 오징어 내장	8
나. 시약 및 첨가물	8
2. 실험방법	8
가. 일반성분과 pH 측정	8
나. Fermentor의 운전	9
다. 지질제거율 측정	9
라. 사료의 일반성분 측정	9
마. 아미노산의 조성 비교	9
바. 지방산분석	10
사. 과산화물가의 측정	10
아. 산가의 측정	11
자. 당가계산	11
III 결과 및 고찰	13
1. 오징어 내장의 일반성분	13
2. 효소 종류에 따른 오징어 내장의 지질제거 효과	15

3. 오징어 내장의 구성아미노산	19
4. 오징어 내장의 지방산분석	21
5. Fermentor의 사용	23
5-1. 효소농도에 따른 지질제거율	23
5-2. 회전수에 따른 지질제거율	25
6. 제거된 지질의 과산화물가와 산가 측정	27
6-1. 과산화물가 측정	27
6-2. 산가 측정	29
7. 오징어 내장유와 가수분해 한 내장유의 지방산 분석	31
8. ESLP 분석	33
8-1 ESLP와 SLP의 일반성분 비교	33
8-2. 구성 아미노산과 유리아미노산 비교	36
9. ESLP의 과산화물가와 산가	39
9-1 과산화물가	39
9-2 산가	41
10. 단가비교	43
IV 요약	46
감사의 글	48
V 참고문헌	49

Research on SLP Processing Improvement by

Enzymatic Hydrolysis of Squid viscera

Choul-Hwan Lim

Department of Food Science and Technology

Graduate School, Pukyong National University

Abstract

Viscera from 2 species of squid (*Todarode pacificus* *Ommastrephes bartrami*) were analyzed for their use as feed and food. Squid viscera is a by-product of squid processing. The contents of water, protein and lipid of east squid viscera were 64%, 15%, 16% and there of ocean squid viscera were 69%, 15%, 13%.

The protein quality of squid viscera had the high level having lots of essential amino acids, which suggest a good source of protein supplement for feed. This is used as feed for fish, chicken and especially shrimp, but SLP(squid liver powder) is limited by high the content of lipid. Squid liver has a high ratio of phospholipid, so the removal of lipid is very difficult.

The proximate composition, fatty acid total lipid of viscera of squid

(*Todarode pacificus*) were analyzed.

Docosahexaenoic acid (DHA) and eicosapentaenoic acid (EPA) of squid viscera oil were 21% and 15%, respectively.

Optimal temperature and pH of alcalase for squid(*Todarode pacificus*) viscera were 55°C and pH 9, respectively. Lipid removal ratios as the concentrations of 0.2%, 0.4%, 0.6%, 0.8% alcalase were 35%, 52%, 53%, 53% of total lipid, respectively.

Acid and peroxide values of squid viscera oil were 1.21~3.05 KOH mg/g and 2.5~21.5meq/kg, respectively.

SLP (Squid liver powder) and ESLP (Enzymatically hydrolyzed the squid liver power) were analyzed for their proximate compositions. SLP consisted of 40% protein , 23.5% lipid and 10% water. ESLP consisted of 45.9% protein, 28.4% lipid and 10.3% water.

I 서론

최근 양식산업은 급속히 발전하는 수산업의 한 분야이며, 갈수록 늘어가는 수산물의 수요로 경제적 중요성이 지속적으로 증가하고 있다. 현재 주요 수산식품(어류, 갑각류 및 연체동물)의 세계 어업 생산량은 연간 약 6천만톤으로 한계에 도달한 것으로 예측되며, 21세기 초에는 인구의 자연 증가에 따른 소비의 급속한 양적 팽창이 요구되어 2035년에는 세계 어업 생산고에 달하는 6천 1백 70만톤 정도의 많은 양이 수산 양식업에서 생산 공급되어야 할 것으로 추정하고 있다(Bai and Kim, 1999). 최근에 천해양식 생산량 중 어류가 차지하는 비율이 점차로 증가되고 있으며, 1986년 방어를 위주로 2,900톤이던 것이 1996년에는 넙치 및 조피볼락을 중심으로 57,800여톤을 생산하여 20배 정도 증가했다(해양수산부, 1997). 아울러, 국내 주요 해산어종인 넙치와 조피볼락의 배합사료 생산량에 있어서도 1994년 13,400톤, 1995년도에는 25,200톤, 1996년도에는 30,100톤으로 늘어남으로써 어분의 수요가 점차적으로 증가되고 있다(단미회보, 1997). 그러나, WTO 출범과 최근의 한일, 한중 어업협상으로 인한 연근해 자원활용의 제한 및 고갈 등은 국내 수산업의 생존에 커다란 위협이 되고 있으며, 세계적으로 자국의 자원량 확보나 미이용자원의 활용에 많은 심혈을 기울이고 있다. 정어리는 어분의 주요 원료로 어획량 감소로 인한 공급불안정으로 어분가격이 가파르게 상승하고 있어 양식 생산비의 약 50%를 차지하는 사료값의 급등은 양식산업의 수익성을 위협하고 있다. 최근 어류 소비물량은 전 세계적으로 매년 2.5%씩 증가하고 있으며, 수산물이 인체에 미

치는 영양 및 건강효과에 있어 수요량은 계속 증가 추세에 있으며 양식어류가 수산물 생산에 있어 전체 증가량의 26%를 차지하고 있다. 따라서, 가격이 저렴하고 공급이 안정적인 어분대체 단백질의 개발이 절실한 실정이다.

따라서, 수산물 처리 가공으로부터 얻어지는 부산물의 식량자원 및 사료로의 이용이 절실히 요구되고 있다. 오징어는 가공과정에서 식도, 위장, 간장, 생식선 등이 제거되는데 이는 전체 중량의 약 20%에 달한다. 오징어 가공부산물의 양은 연간 9만여톤으로 이는 전체 해수활용 양식물량(연간 3만여톤)의 3배에 해당한다. 따라서, 오징어 부산물의 단백질을 회수 사료원으로 사용하여 SLP(Squid liver powder)을 만들어 국내에서 일부 양어 및 양계 사료로 사용되는 외에 동남아 새우시장의 대부분을 국내 업체에서 공급하고 있다.

그러나, SLP 사료의 제조에 있어서 오징어 내장에 많이 함유되어 있는 지질은 많은 제조공정을 요구한다. Fig. 1과 같이 SLP 사료의 제조는 오징어 내장을 마쇄하여 삶은 다음 어즙을 분리하고 어즙을 분리하는 과정에 있어서 여러 공정이 부가되므로 상당한 경비를 소요하게 되는데, 이것은 오징어 내장에 많이 함유되어 있는 지질 중 극성을 띄는 인지질의 함유량이 높아 단백질과 지질의 분리를 어렵게 하기 때문이다. 그러므로, Fig. 2와 같이 SLP 제조 공정을 개선하여 오징어 내장에 효소를 사용하여 단백질을 가수분해시켜 인지질의 단백질과의 결합력을 떨어뜨린 후 연속식원심분리로 지질을 제거하면 고품질의 사료를 제조하는 외에 공정을 단순화하여 초기 설비비를 절감할 수 있다. 또한, 분리된 지질은 고도불포화지방산의 원료로 사용할수 있을 것이다.

이 지질에는 ω 3계 지방산인 EPA (20:5 ω 3), DHA (22:6 ω 6)의 함량이 많을 것으로 생각되어진다. SLP 사료의 재료가 오징어 내장이므로 이것에는 일반어류와 비교 했을 때, 지방질과 비타민 B군, 무기질 함량이 높고 내장유에는 특히, ω 3계 지방산인 EPA (20:5 ω 3), DHA (22:6 ω 6)의 40%이상으로 그 함량이 저가 다핵성 어류인 정어리의 25%에 비하여 월등히 높은(順山, 1983) 것으로 보고 되고 있고, 이런 EPA와 DHA는 동맥경화나 고혈압 등의 성인병과 순환기계 질환의 예방과 치료, 두뇌 활동에 대한 효과 등으로 영양생리학적으로 중요성이 강조되고 있다.

따라서, 본 연구에서는 효소를 이용한 SLP제조공정이, 기존의 SLP제조공정과 비교하여 개선 가능성에 대하여 알아보고, 제거된 지질의 사용가능성을 살펴보기로 한다.

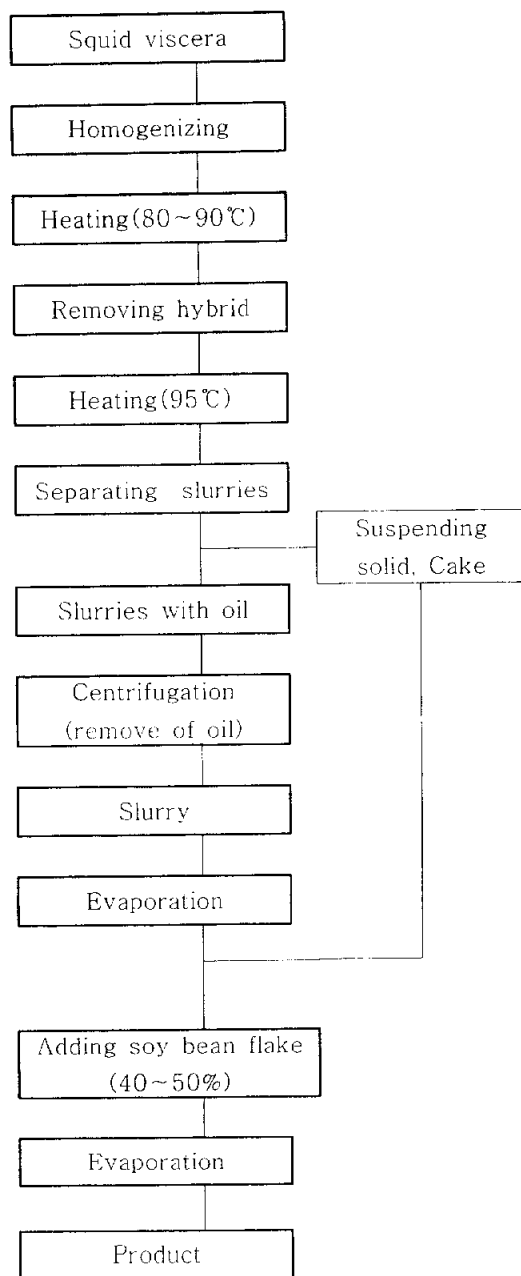


Fig. 1. Flow chart for production of SLP

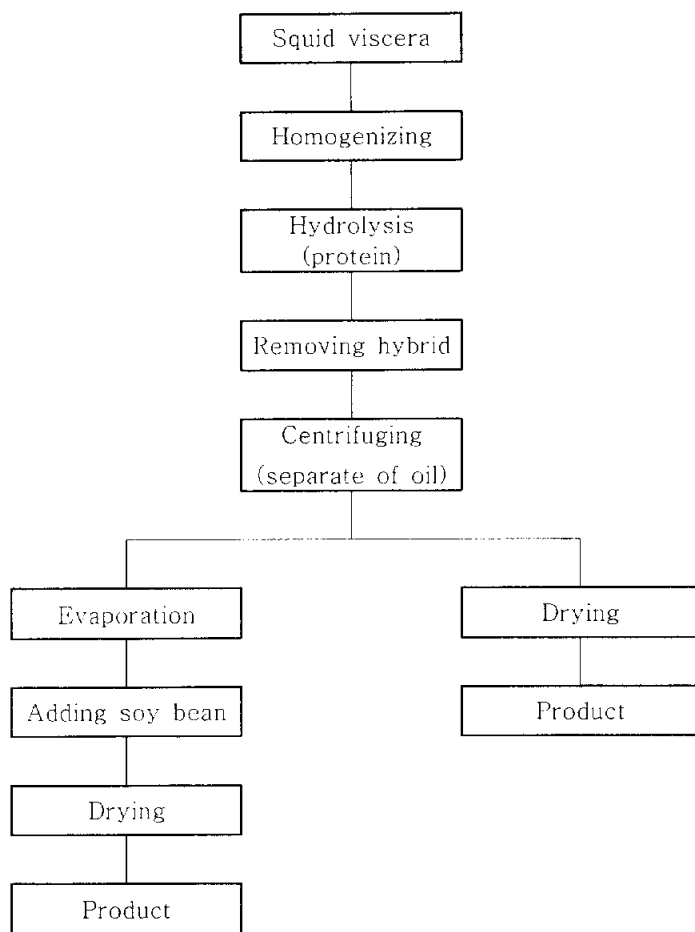


Fig. 2. New method for SLP processing by enzymatic hydrolysis

II 재료 및 방법

1. 실험재료

가. 오징어내장

실험에 사용한 한국 동해안의 연안산 오징어(*Todarodes pacificus*)와 베링산 원양오징어(*Ommastrephes bartrami*) 내장은 2000년 9월 (주)제일냉장에서 구하여 먹물부를 분리한 후 stephan mix를 사용하여 20분간 마쇄하여 250g 단위로 폴리에틸렌 비닐에 넣어 -20℃에 저장하면서 사용하였다.

나. 시약 및 첨가물

사용효소인 Protamex (1.5AU/g, *Bacillus* origin), Alcalase (0.6AU/g, *Bacillus licheniformis* origin), Neutrase (0.5AU/g, *Bacillus amyloliquefaciens*)등은 Novozymes (Denmark)사의 상업용 효소를 제공받아 사용하였으며, 그 외 시약은 전기영동급을 그리고 물은 증류수를 사용하였다.

2. 실험방법

가. 일반성분과 pH 측정

수분은 상압가열 건조법, 조단백질 함량은 microkjeldahl 법, 조지방은 Soxhet법, 회분은 건식회화법으로 (AOAC, 1980) 측정하였으며, pH는 pH meter (ORION, USA)를 사용하여 시료 5g에 증류수 45ml를 가하여 균질화 시킨 후 3회 측정하여 평균을 구하였다.

나. Fermentor의 운전

Fermentor (Mobel ; Bio G-5, Korea)을 사용하여 교반속도를 150, 200, 400rpm으로 하고, pH는 glass electrode에 의해 측정되고, pH 조절은 0.1N HCl과 0.1N NaOH를 정량펌프로 조절하면서 사용하였다.

다. 지질제거율 측정

가수분해된 시료를 원심분리하여 상층액의 지질을 수거한 후 130℃에서 15분간 가열하여 수분을 제거하고 남은 지질을 무게비로 하여 지질 제거율을 계산하였다.

$$\text{지질제거율(\%)} = \frac{\text{가수분해하여 제거된 지질량}}{\text{오징어 내장 100g에 포함된 지질량}} \times 100$$

라. 사료의 일반성분 측정

현행공정에서 생산된 SLP와 실험에서 만들어진 ESLP의 일반성분을 수분은 상압가열 건조법, 조단백질 함량은 microkjeldahl 법, 조지방은 Soxhet법, 회분은 건식회화법으로 (AOAC, 1980) 측정하여 비교하였다.

마. 아미노산의 조성 비교

일반 사료공장에서 만든 것과 효소를 사용하여 만든 사료를 시험관에 50mg을 취한 후 6N HCl 10ml를 넣고 진공 밀봉한 다음 110℃에서 24시간 가수분해하였다. 가수분해된 시료는 glass filter (3G-4)로 여과한

후 감압 농축하였다. 이 때 산을 완전히 제거하기 위해 적당량의 탈이온수로 다시 녹인 후 감압농축 과정을 3~4회 반복하였으며 Sodium citrate buffer (pH 2.2)로 일정량 희석한 후 0.2 μ m membrane filter로 여과하여 아미노산 자동분석기(Sykam 사제, Amino acid analyzer S433)로 아래의 식으로 분석하였다.

$$\% \text{ of amino acid in sample} = \frac{\text{Sample con. (ppm)}}{\text{Sample wt. (g)}} \times \text{희석배수(ml)} \times 10^{-4}$$

바. 지방산 분석

Alcalase의 최적 조건하에서 오징어 내장을 가수분해시킨 후 원심분리하여 crude lipid를 분리한 후 100mg을 50ml 삼각플라스크에 취한 다음 0.5N NaOH-Methanol 용액 3ml을 가한다. 80℃ 항온 수조에 삼각플라스크를 냉각관에 부착하여 담그고 5분간 가온하고, 냉수에 삼각플라스크를 냉각한 다음 14% BF 3-methanol 3ml를 가하여 5분간 가온 후 냉각하여, 냉각관으로부터 삼각플라스크를 분리, 포화 NaCl 용액 3ml를 가하여 진탕하고 5분간 방치한다. 흰색침전물은 제외하고, 상등액에 n-Hexane 3ml를 가하고, 증류수를 첨가하여 수세한다. n-Hexane 층을 무수황산나트륨(MgSO₄)을 넣은 여과지에 통과시켜 cap tube에 받는다. 질소 가스로 가스치환하여 적당량으로 농축한 후 밀봉하여 가스크로마토그래피로 분석한다.

사. 과산화물가(Peroxide value, POV)의 측정

과산화물가는 적당량의 시료유를 250ml 삼각플라스크에 취한 후

chloroform-acetic acid (2:3, v/v)용액 30ml를 첨가하여 용해시켜 포화 KI 용액 1ml를 넣고, 1분간 격렬히 혼돈다. 이것을 상온암소에서 5분간 방치시킨 다음 70ml의 증류수를 첨가, 반응을 정지시키고 전분지시약을 첨가하여 0.01N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 표준용액으로 적정하였다.

아. 산가(Acid value)의 측정

산가의 측정은 0.1N KOH/에탄올 용액을 사용하여 식품공전(일본유지학회, 1983)의 방법에 따라 측정하였다.

자. 단가계산

사료 1톤을 만들 때 들어가는 오징어내장, 대두량, 가수분해 효소의 첨가량을 구하여 산출하였다.

Table 1. Operating conditions of amino acid analyzer for analyzing the amino acid composition

Column size	150mm, 4mm ID
Reagent flow rate	0.25ml/min
Buffer flow rate	0.45ml/min
Reactor temperature	120℃
Reactor size	15 m
Switching reagent/water	55min
Analysis time, set at the autosampler	64min

III 결과 및 고찰

1. 오징어 내장의 일반성분

실험에 사용한 연안산 오징어(*Todarodes pacificus*)와 원양산오징어(*Ommastrephes bartrami*)의 일반성분은 Table 2와 같다.

오징어의 일반성분은 종류, 어획시기, 실험방법 등의 여러 요인에 따라 차이가 있는데 일반적으로 산란전 4월의 오징어는 산란후인 6월의 오징어에 비해 수분함량이 적고 조단백질이 많은 경향을 나타내며 7월에는 12월까지의 큰 변동이 없는 것으로 알려져 있다(順山, 1983).

연안산 오징어의 수분함량은 약 64%, 단백질 함량은 약 15%, 지방함량은 약 16% 정도로 나타났으며, 원양산 오징어의 수분함량은 약 69%, 단백질 함량은 약 15%, 지방함량은 약 13%으로 나타났다. 이것은 Kim등(1997)의 보고에 의한 연안산 오징어의 일반성분 수분함량이 64.6%, 단백질 함량 17.8%, 지방함량 14.1%와 비슷한 것으로 나타났다. 그리고, 원양산 오징어(*Illex argentinus*) 내장에 지질함량이 약 22%라는 보고(Kim et al., 1995)도 있다.

Table 2. Chemical composition of the squid viscera

Composition	Contents (%)	
	<i>Todarodes pacificus</i>	<i>Ommastrephes bartrami</i>
Moisture	64.37 ± 0.02	69.00 ± 0.17
Protein	15.09 ± 0.10	15.10 ± 0.21
Lipid	16.15 ± 0.13	13.60 ± 0.75
Ash	1.30 ± 0.10	1.50 ± 0.15
Total	96.91 ± 0.08	97.70 ± 0.45

2. 효소 종류에 따른 오징어 내장의 지질제거 효과

3종의 상업용 단백질 분해효소(alcalase, protamex, neutrase)를 사용하여 연안산 오징어 내장, 원양산 오징어 내장 그리고 혼합한 오징어 내장에서 지질제거 효과를 Fig. 3, 4, 5에 나타냈었다. 반응 온도를 55℃로 하고 pH를 달리하여 지질의 제거 효과를 살펴보았다. 연안산 오징어 내장의 경우, pH 3에서 지질의 제거 효과를 살펴볼수 있었는데 이것은 강산에 의해서 지질이 제거 된 것으로 판단되며, alcalase에서는 pH 9에서 60% 정도의 지질제거 효과를 볼수 있었고, protamex와 neutrase에서는 pH 7에서 각각 40%와 1%의 지질제거 효과를 볼수 있었다. 반면 원양산 오징어 내장에서는 사용한 모든 효소에서 지질의 제거 효과를 볼 수 없었다. 혼합한 오징어 내장의 경우에는 연안산 오징어 내장으로 alcalase에서는 pH 9에서 약 25%정도, protamex와 neutrase의 경우 pH 7에서 각각 약 10%와 1% 정도의 제거 효과를 나타내고 있다. 이 결과 효소에 의한 지질제거 효과는 연안산 오징어 내장에서 효과를 나타내고 있으며 alcalase, protamex 그리고 neutrase 순으로 효과가 있는 것으로 보여지고, 원양산 오징어 내장에서는 지질제거 효과를 살펴보지 못했다. SLP제조시 연안산 오징어 내장과 원양산 오징어 내장을 분리하여 사용하는 것이 더 바람직 할 것으로 보여진다.

그리고, 본 연구에서 alcalase 가장 잘 반응한 연안산 오징어 내장을 사용하여 실험하였다.

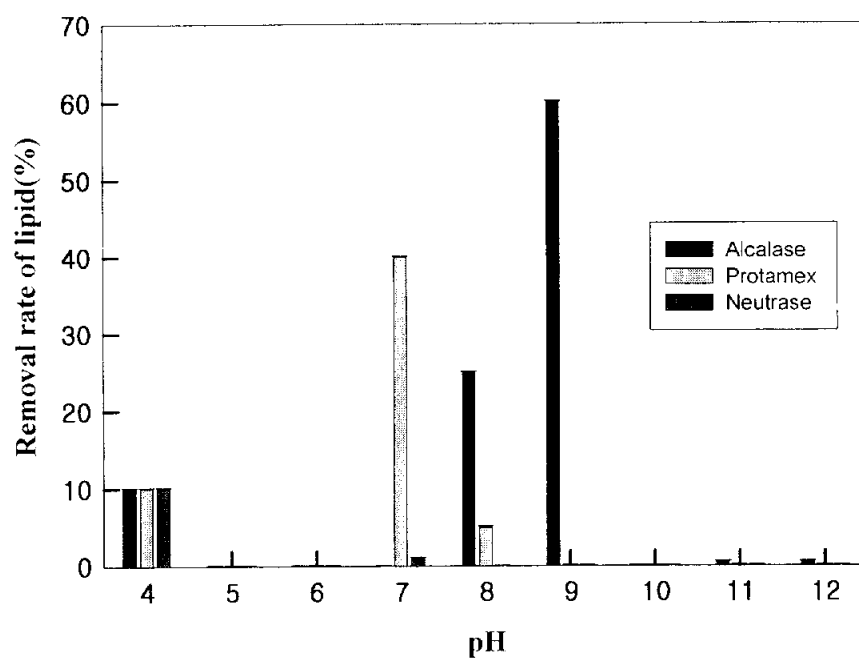


Fig. 3. Removal of lipid from viscera(*Todardes pacificus*) by enzymatic hydrolysis.

The concentration of each enzyme was 1%, and the reaction temperature and time were 55°C and 2hrs, respectively.

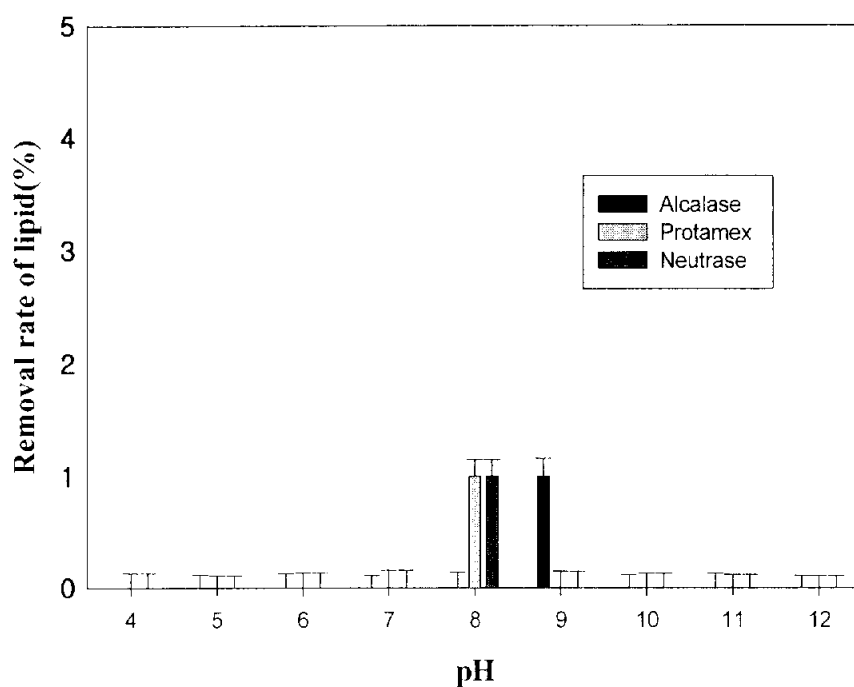


Fig. 4. Removal of lipid from viscera(*Ommastrephs bartrami*) by enzymatic hydrolysis.

The concentration of each enzyme was 1%, and the reaction temperature and time were 55°C and 2hrs, respectively.

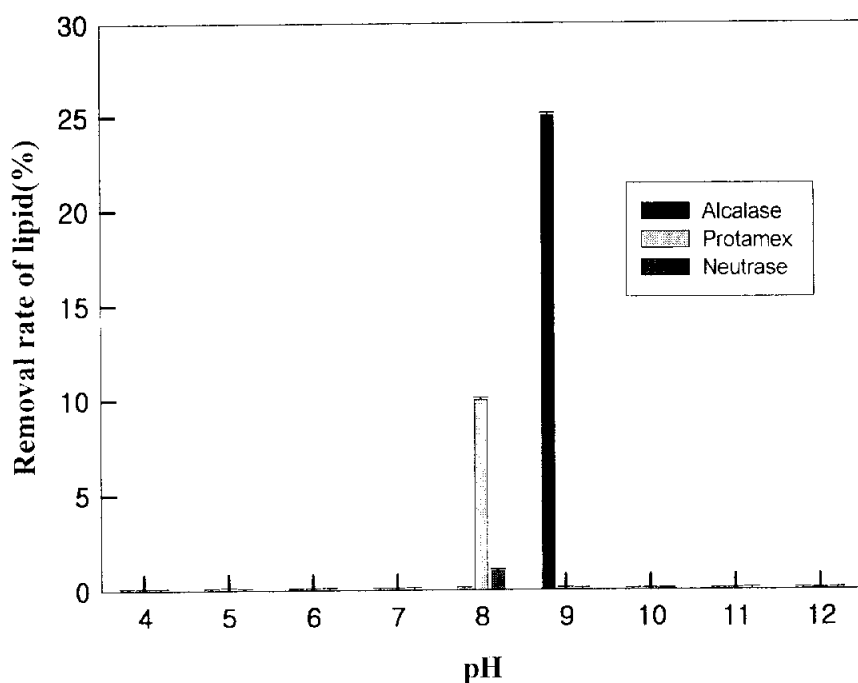


Fig. 5. Removal of lipid from mixing viscera (*Todardes pacificus* and *Ommastrephs bartrami*) by enzymatic hydrolysis.

The concentration of each enzyme was 1%, and the reaction temperature and time were 55°C and 2hrs, respectively.

3. 오징어 내장의 구성아미노산

어종에 따른 필수 아미노산의 요구량을 살펴보면 어종에 따라 차이는 있지만, 대략 Arg이 2.8~6.0%, His 1.0~2.1%, Ile 2.0~4.0%, Leu 3.3~5.3%, Lys 3.8~6.3%, Met 1.0~5.0%, Phe 2.5~5.8%, Thr 2.1~4.0%, Trp 0.4~1.1% 그리고 Val이 2.2~4.0% 정도로 필요하다(NRC, 1983; Ogino, 1980; Jauncy et al., 1983). 그래서 오징어 내장의 사료원으로서의 이용 가치를 알아보기 위해의 Table 3과 같이 구성 아미노산 함량을 살펴 보았다.

오징어 내장의 필수 아미노산 함량을 살펴 보면 Arg이 1.02%, His 0.32%, Leu 1.26%, Lys 1.26%, Met 0.44%, Phe 0.57%, Thr 0.72%, Trp 0.53%, Val 0.65%로 나타났다. 이것은 건조하지 않은 생 오징어 내장의 아미노산 함량을 나타냈기 때문에 다소 함량이 낮게 나타났으나 사료는 수분함량이 매우 낮은 상태로 만들어지기 때문에 오징어 내장의 수분을 제거한다면 단백질함량이 다소 높아지므로 아미노산 함량 또한 높게 나타날 것으로 기대되므로 사료로서 충분히 이용가치가 있을 것으로 생각된다.

Table 3. Amino acid composition of the squid viscera

Amino acid	(%)
	Species of the squid viscera
	<i>Todarodes pacificus</i>
Ala	0.85
Arg	1.02
Asx	1.63
Cys	0.43
Glx	0.24
Gly	0.81
His	0.32
Ile	0.57
Leu	1.26
Lys	1.26
Met	0.44
Phe	0.57
Pro	1.41
Ser	0.81
Thr	0.72
Trp	0.53
Tyr	0.43
Val	0.65
Total	13.95

4. 오징어 내장의 지방산 분석

오징어 내장유의 지방산 조성을 GLC에 의한 분석한 결과를 Table 4에 나타내었다. 주요 지방산은 22:6 ω 3(DHA, 21.2%), 16:0(10.6%), 18:1 ω 9(12.1%), 20:5 ω 3(EPA, 15.6%)이었으며, 총 지방산의 39%정도가 고도 불포화 지방산으로 구성되어 있었고, EPA와 DHA의 함량은 36%정도도 나타났다.

오징어 내장중 DHA의 함량은 약 21%로 고등어(13.2%)와 정어리(10.7%)에 비해 약 2배 가량 높았다(JAOA, 1989). EPA의 함량에 있어서도 고등어나 정어리에 비해 약 1.5~2배 정도 높게 나타났다.

구성지방산중 ω 3계열인 EPA는 막지질의 조성과 기능에 영향을 주며 동물의 성장과 대사에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있으며 DHA는 사람을 비롯한 포유동물의 뇌조직내에 풍부한 지방산으로 뇌 발달과 지능발달에 관여하는 것으로 알려져 있다(Wiseman, 1984; Lee, 1994; John, 1987). 그리고, 국내 DHA 생산의 주요한 원료인 참치 안와 조직중의 DHA 함량과 유사하고, EPA는 2배 가량 높게 함유함으로써(Jeong, 1993; Hayashi and Kishimura, 1993), DHA의 생산을 위한 원로서 이용가치가 충분할것으로 판단된다.

Table 4. Fatty acid composition obtained from the squid(*Todarodes pacificus*) viscera oil by gas-liquid chromatography.

No	Fatty acid	%
1	C14	3.1
2	C16	10.7
3	C16-1	3.7
4	C18	1.3
5	C18-1	12.2
6	C18-2	2.3
7	C20-5(EPA)	15.6
8	C22-6(DHA)	21.2
9	others	29.9
Total		100.0

5. Fermentor의 사용

5-1. 효소농도에 따른 지질제거율

Fermentor을 이용한 지질제거율을 Fig. 6과 같이 나타냈었다. 이것은 Park(2001)의 발표에서 연안산(*Todarodes pacificus*) 오징어 내장의 지질 제거효과가 alcalase에서 가장 효율이 높아 본 실험에서는 alcalase만을 사용하였고, Fermaentor를 이용하여 농도별에 따른 지질제거율을 관찰하였다. 이때 조건은 alcalase의 최적반응온도 55℃, 최적 pH 9을 맞추어 가면서 실험하였다.

지질제거율을 비교하여보면 0.2%에서는 반응시간 8시간 이후에 약 35%정도, 0.4%에서는 반응 2시간 일 때 45%정도, 6시간 일 때 약 55% 정도의 제거율 보여주는 반면에 0.6% 와 0.8%에서는 반응 2시간째부터 약 55%정도의 제거율을 보여주었다. 효소의 사용량을 고려해 볼 때 최소 사용량은 0.4%정도가 적당할 것으로 생각되어진다.

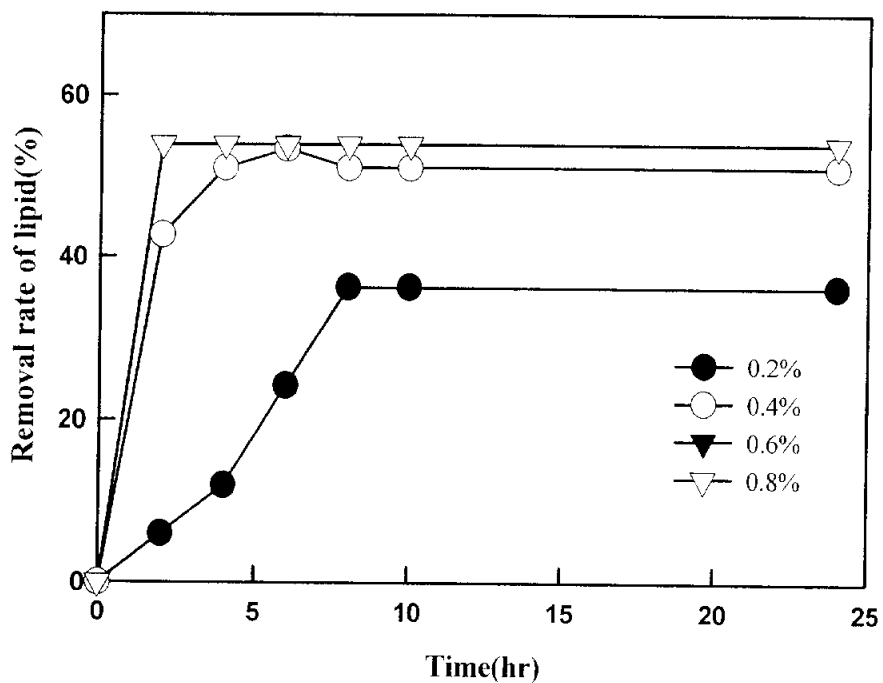


Fig. 6. Changes of lipid removal from squid(*Todardes pacificus*) on the concentration of alcalase during reaction time.

The reaction temperature, pH and agitator speed were 55°C, pH 9 and 150 rpm, respectively.

5-2. 회전수에 따른 지질제거율

앞에서는 fermentor(발효조)에서 효소 농도에 따른 오징어내장의 지질제거효과를 살펴보았다. 그래서, 지질제거 효과에서 최소의 효소 사용량을 추정했다. Alcalase의 최적 농도가 0.4%정도로 나타났으므로 최적 반응온도 55℃, 최적 pH 9의 조건에서 fermentor(발효조)를 사용하여 오징어 내장과 효소의 최적 반응을 살펴보기위해 rpm과 반응시간을 다르게 하여 실험하였다. Fermentor의 rpm을 200, 400으로 하여 시간별로 반응을 시킨후 25ml을 취하여 3000rpm, 15분간 원심분리하여 지질 제거효과를 Fig. 7에 나타내었다. Fermentor의 rpm은 200이나 400에서 변차이를 보이지 못했고, 반응 최적시간은 2시간정도를 보여주고 있다. 이것은 효소의 농도와 시간에서 보여주는것과 비교하면 0.4에서 약 8시간일때 최대 제거효과를 보여 주었는데 fermentor를 사용했을 상당히 시간이 단축되고있음을 보여주고 있다.

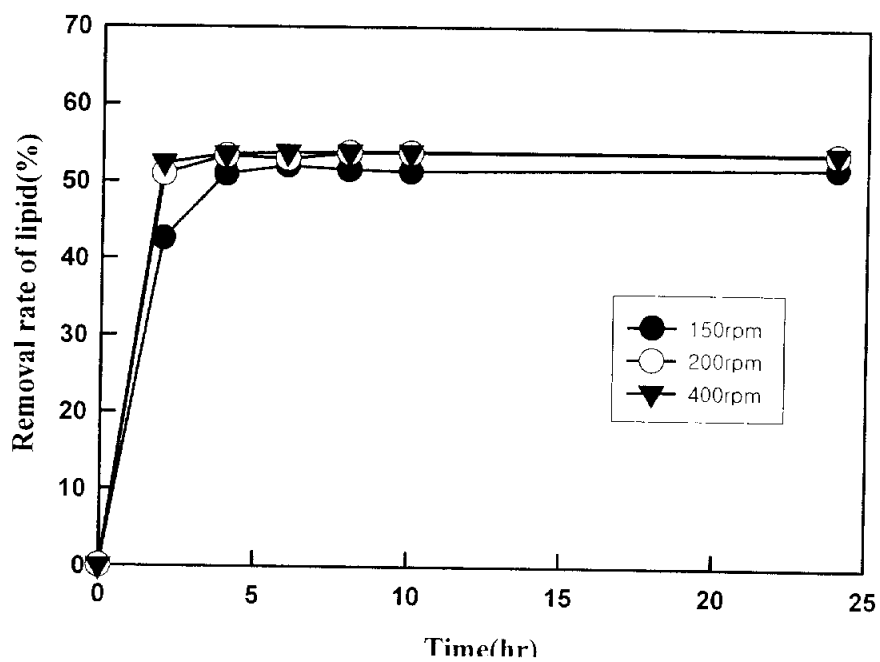


Fig. 7. Changes of lipid removal from squid(*Todardes pacificus*) on the concentration of alcalase during reaction time.

The fermentation was carried out at pH 9 and 0.4% alcalase.

6. 제거된 지질의 과산화물가와 산가의 측정

6-1. 과산화물가 측정

효소의 농도에 따른 지질의 과산화물가의 측정 결과가 Fig. 8와 같이 나타났다. 반응시간이 2시간 일 때 효소 농도 0.2%, 0.4%, 0.6%, 0.8% 일 때 각각 5 ± 0.24 meq/kg, 4.3 ± 0.13 meq/kg, 2.5 ± 0.14 meq/kg, 2.5 ± 0.11 meq/kg 으로 나타내고 있으며, 반응시간이 10시간일 때 급속한 증가를 보여주고 있다. 그리고 24시간일 때, 0.2%, 0.4%, 0.6%, 0.8% 효소 농도 일 때 각각 21.5 ± 0.2 meq/kg, 20.3 ± 0.2 meq/kg, 19.8 ± 0.14 meq/kg, 19.7 ± 0.18 meq/kg으로 나타났다. 효소 농도에 따른 과산화물가의 차이는 거의 볼수 없었다.

과산화물가의 증가는 특유의 어취 증가 및 수율에 영향을 미치므로 효소를 사용하였을때가 기존의 방법보다 지방의 산화가 적게 일어나고 있음을 알수 있다. 이렇게 값이 낮게 나올수록 지질을 이용할 가능성이 나타날것으로 예상된다.

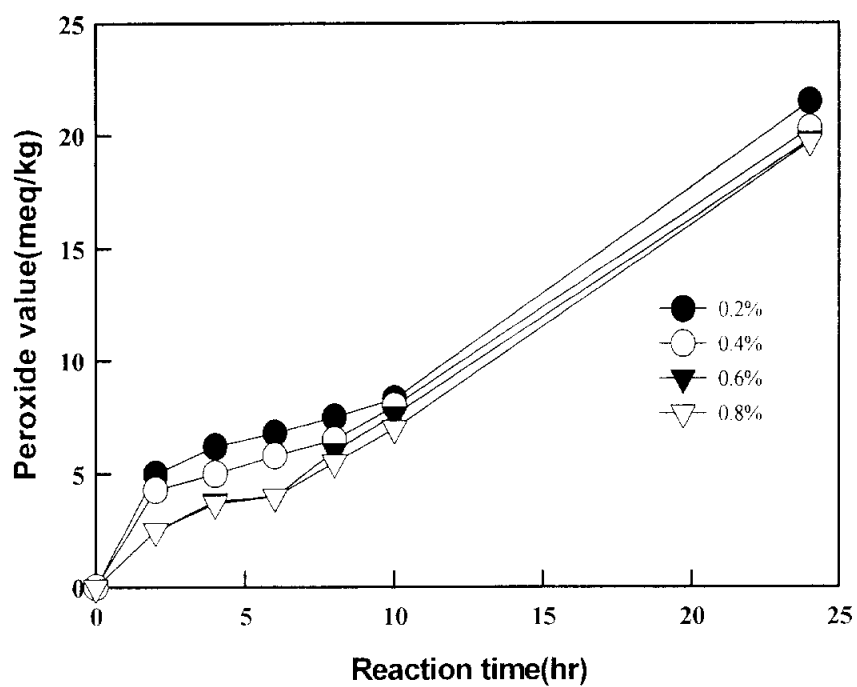


Fig. 8. Changes of peroxide value of the squid(*Todardes pacificus*) oil during reaction time(hr).

6-2. 산가 측정

효소의 농도와 발효 시간에 따른 산가의 변화를 Fig. 9과 같이 나타냈다. 반응시간이 2시간일 때 효소농도 0.2%, 0.4%, 0.6%, 0.8%일 때 각각 1.39 ± 0.23 , 1.4 ± 0.21 , 1.23 ± 0.26 , 1.21 ± 0.30 으로 나타났고, 반응시간 24시간일 때 효소농도별 산가는 각각 3.05 ± 0.24 , 3.04 ± 0.19 , 2.85 ± 0.16 , 2.64 ± 0.23 으로 나타내었다.

산가는 유리지방산의 양을 나타낸 것이다. 유리지방산은 지질산화를 촉진할뿐만 아니라, 이를 다량 함유하고 있는 경우 이를 제거하기위해 알칼리처리를 한다(Kim, 1996). 이렇게 알칼리 처리하는 것은 유리 지방산을 유지에 난용인 검화물로 형성시켜 분리, 제거하는 것이다. 그러나, 효소를 이용해 제거한 지질에서는 산가가 매우 낮게 나와서 지질 정제시 이러한 알칼리처리를 거의 하지 않아도 될 것으로 생각되고 또한 유리지방산이 낮아 지질의 산화가 적게 일어났을 것으로 생각된다.

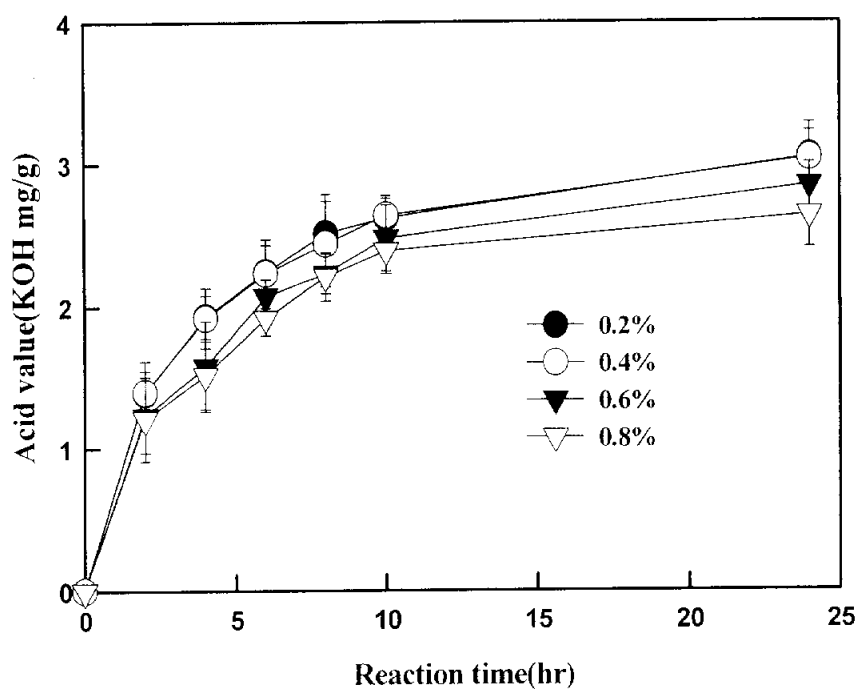


Fig. 9. Changes of acid value of the squid(*Todardes pacificus*) oil during reaction time(hr).

7. 오징어 내장유와 가수분해 한 내장유의 지방산 분석

연안산 오징어 내장유와 alcalase를 사용하여 연안산 오징어 내장을 가수분해 후 제거된 지질의 지방산을 Table 5에서 비교하였다. 오징어 내장을 55℃에서 4시간 정도 가수분해 시킨후 EPA(eicosapentaenoic acid)와 DHA(docosahexaenoic acid)의 함량의 변화를 살펴보았는데 원 오징어 내장유의 함량이 각각 15.6%, 21.2%로 나타났다. 그러나 가수분해 후 함량의 변화를 살펴보면 약 13%, 19% 정도의 함량을 포함하고 있는 것으로 나타났다. 이것은, 앞의 과산화물가와 산가에서 나타내고 있는 것과 같이 지질의 산화가 거의 일어나지 않은 것으로 보여진다. 이 결과를 미루어본다면 가수분해 후 제거된 지질을 EPA나 DHA를 정제하여 사용할수 있을것으로 보여진다.

Table 5. Comparison of fatty acid composition in raw viscera oil and hydrolyzed viscera oil.

(%)			
No	Fatty acid	Raw viscera oil	Hydrolyzed viscera oil
1	C14	3.1	4.3
2	C16	10.7	9.8
3	C16-1	3.7	3.9
4	C18	1.3	1.6
5	C18-1	12.2	14.3
6	C18-2	2.3	1.5
7	C20-5(EPA)	15.6	13.2
8	C22-6(DHA)	21.2	19.0
9	others	29.9	32.4
Total		100.0	100.0

8. ESLP (Enzymatically hydrolyzed the squid liver powder)의 분석

8-2. ESLP와 SLP의 일반성분비교

회사에서 대두단백질을 첨가하여 만든 사료와 본 실험의 공정을 통하여 만든 사료의 일반적인 성분을 Table 7과 같이 분석하여 비교하였다. 일반적인 공정을 사용한 사료의 일반성분은 수분 10.35%, 단백질 39.85%, 지방이 23.45%로 나타났고, 효소를 사용하여 만든 사료의 일반성분은 수분 10.27%, 단백질 45.87%, 지방이 28.41%으로 나타나 일반적인 공정에서보다 단백질과 지방의 함량이 높게 나타났다. 일반적인 공정에서 지방의 함량을 낮추기 위하여 대두를 첨가하는 것을 나타냈다. 이때 첨가하는 대두의 일반적인 성분을 살펴보면 단백질이 44.88%, 지방 2.62%, 수분 11.47%으로 지방함량이 매우 낮은 것을 볼 수 있었다. 이것으로 보아 사료의 기본 사항인 단백질 40%이상, 지방 20%이상, 수분 10%미만, 회분 7% 미만과 비교시 모두 이 조건에 만족한 것으로 나타났다.

사료의 단백질 함량이 30%~50%로 높아질수록 해수어의 성장에 영향을 주고, 이 단백질의 함량은 어종별로 차이가 있으나 대략 45%내외가 좋게 나타났다는 보고가 있다(Lee et al., 1996). 사료내 지방은 에너지 공급원으로 단백질의 절약효과를 보여주고, 어체내 지방산 조성은 사료의 영향을 많이 받는 것으로 나타났다(Kim, 1991). 그리고 탄수화물은 함량이 증가할수록 단백질 소화율이 감소하는 것으로 나타나는 것으로 보고되고 있다(Kim and Kim, 1995).

그래서 일반적인 SLP와 효소를 사용해서 만든 ESLP를 살펴보면 전

Table 7. Proximate compositions of the SLP and ESLP

Composition	(%)	
	Contents (%)	
	SLP	ESLP
Moisture	10.35 ± 0.04	10.27 ± 0.14
Protein	39.85 ± 0.03	45.87 ± 0.15
Lipid	23.45 ± 0.05	28.41 ± 0.01
Ash	5.90 ± 0.04	7.17 ± 0.12
Carbohydrate	20.43 ± 0.06	6.46 ± 0.05
Total	99.98 ± 0.04	98.62 ± 0.09

자에는 탄수화물이 후자에 비해 함유량이 많아 장의 길이가 짧은 어류에서 소화율이 감소할 것으로 예상되고, 단백질의 면에서는 거의 비슷한 수준을 보여주고 있다. 지방의 함량을 보면 후자가 전자보다 훨씬 많은 양을 함유하고 있어서 에너지원으로 사용됨에 따라 단백질의 절약효과를 가져올 수 있다고 생각된다, 또한 어육 지질의 조성은 체내의 합성경로에 의해서도 주로 먹이에 의해 좌우되어 진다(Ackman, 1982; Lee et al., 1998). 오징어내장에는 필수 지방산이 많이 포함되어 있으므로 어체의 지방성분이 사료섭취에 의해 영향을 받기 때문에 체성분 및 조직의 지질에 불포화지방산의 함량이 증가 될 것으로 예상되며, EPA나 DHA가 부족한 담수어류에 이러한 지방산을 함유한 사료 급여시 근육에 축적될 것으로 생각된다. 그리고, 사료의 에너지 함량이 낮으면 어체내에서 단백질을 분해하여 에너지원으로 사용하기 때문에 단백질 효율이 낮아진다는 Lee et al.,(1996)의 보고을 통해 사료에 적정 에너지를 함유하는 것이 사료의 영양소를 효율적으로 이용할 수 있을 것이다.

8-2. 구성아미노산과 유리아미노산 비교

오징어 내장의 구성아미노산을 Table 3에서 나타낸것과 같이 필수 아미노산이 풍부해 사료로서의 이용가치가 있음을 알 수 있었다. 그리고 일반적 공정을 이용하여 만든 SLP와 효소를 사용하여 만든 ESLP(alcalase 0.8%, 12hr)간의 구성 아미노산과 유리아미노산을 Table 8과 9에서 비교하였다. 내장에 포함된 필수 아미노산보다는 함량이 다소 낮게 나타났으나, 두가지 SLP내에 필수아미노산이 고루 함유되어있는 것으로 보여지며 이것은 어체가 이용시 큰 도움이 될 것이라 예상된다. 유리아미노산의 함량이 높을수록 사료의 섭이촉진율을 높일수 있는데 효소를 통하여 가수분해 시킨 ESLP가 SLP보다 높게 나타난 것으로 보아 ESLP가 더 사료 섭이를 촉진시킬수 있을것으로 보인다.

그리고 ESLP와 SLP간의 타우린 함량을 비교하여 보면 ESLP가 SLP보다 약 3배 정도 많이 함유하고 있는 것으로 나타났다. 이런 타우린에는 여러 기능의 특성이 있는데 체내 콜레스테롤 대사와 밀접한 관련이 있는데, 특히 체내 저밀도 콜레스테롤을 저하시키고 고밀도 콜레스테롤을 증가시키는 중요한 인자로 역할을 하며, 또한 면역증강작용, 항부정맥작용, 해독작용 등의 기능을 하고 있는 것으로 알려져있다 (Mochizuki et al., 1998; Sugiyama et al., 1992; Cho et al., 2000).

이렇듯 타우린 함량이 많은 사료를 먹인다면 이런 성분이 어체에 많이 축적이 된다면, 어류를 섭취했을 때 많은 기능적인 작용을 할것으로 생각된다.

Table 8. Amino acid composition of the SLP and ESLP

	(g/100g)	
Composition of amino acids	SLP	ESLP
Asp	3.1	3.5
Thr	1.2	1.6
Ser	1.2	1.4
Glu	5.0	5.1
Pro		-
Gly	2.0	2.5
Ala	1.5	2.6
Cys	0.5	0.2
Val	1.6	2.4
Met	0.7	1.4
Ile	1.8	2.6
Leu	3.1	3.7
Tyr	0.6	1.3
Phe	1.9	2.3
His	1.7	1.4
Lys	3.0	3.8
NH ₃	0.7	0.6
Arg	2.7	1.6
Total	32.3	38.0

Table 9. The contents of free amino acid of the SLP and ESLP
(mg/100g)

Free amino acid	SLP	ESLP
Phosphoserine	120	32
Taurine	359	937
Phosphoethanolamine	-	-
Urea	-	-
L-Aspartic acid	193	404
L-Threonine	123	316
L-Serine	101	288
Asparagine	-	-
L-Glutamic acid	281	471
L- α -Aminoadipic acid	-	-
Glycine	278	196
L-Alanine	271	651
L-Citrulline	-	-
L- α -Aminobutyric acid	-	-
L-Valine	84	206
L-Cystine	-	-
L-Methionine	287	223
L-Isoleucine	175	457
L-Leucine	298	663
L-tyrosine	136	127
L-Phenylalanine	159	368
β -alanine	-	-
DL- β -Aminoisobutyric acid	-	-
γ -Aminobutyric acid	-	-
NH ₃	33	12
L-Ornithine	-	-
L-Lysine	14	77
1-Methyl-L-Histidine	196	604
L-Histidine	23	97
3-Methyl-L-Histidine	-	38
L-Carnosine	-	-
L-Arginine	116	155
Total	2,738	6,322

9. ESLP의 과산화물가와 산가

9-1. 과산화물가

ESLP의 효소 농도와 발효시간에 따른 과산화물가의 변화를 Fig. 10에 나타낸 것으로, 최적의 효소 농도가 0.4%를 첨가 시켜 반응시켜올 때이므로 반응시간이 2시간, 효소 농도가 0.4%일 때 과산화물가는 $45.6 \pm 0.24 \text{ meq/kg}$ 으로 나타났다. 그리고 반응 시간이 증가함에 따라 과산화물가의 감소율 나타내고 있는데 이것은 효소 반응시간외에 건조과정에서 오징어 내장에 포함되어있는 지질이 산화되었을 것으로 생각된다.

현재 생산되고 있는 SLP의 과산화물가는 2 meq/kg 이하로 나타나고 있다. 반면에 효소를 사용하여 만든 ESLP는 반응시간이 24시간이 되어도 과산화물가는 그 이상 높은 값을 나타내고 있다. 오징어어분의 지방산화취가 새우류에 있어서 먹이유인에 기인한다는 보고(Lee, 1999)와 비교 할 때 과산화물가가 낮을수록 유인에 기여 할 것으로 생각된다. 또한, 현재 생산되고 있는 SLP와 비교 할 때 ESLP 또한 거의 비슷한 경향을 나타낼것으로 생각된다.

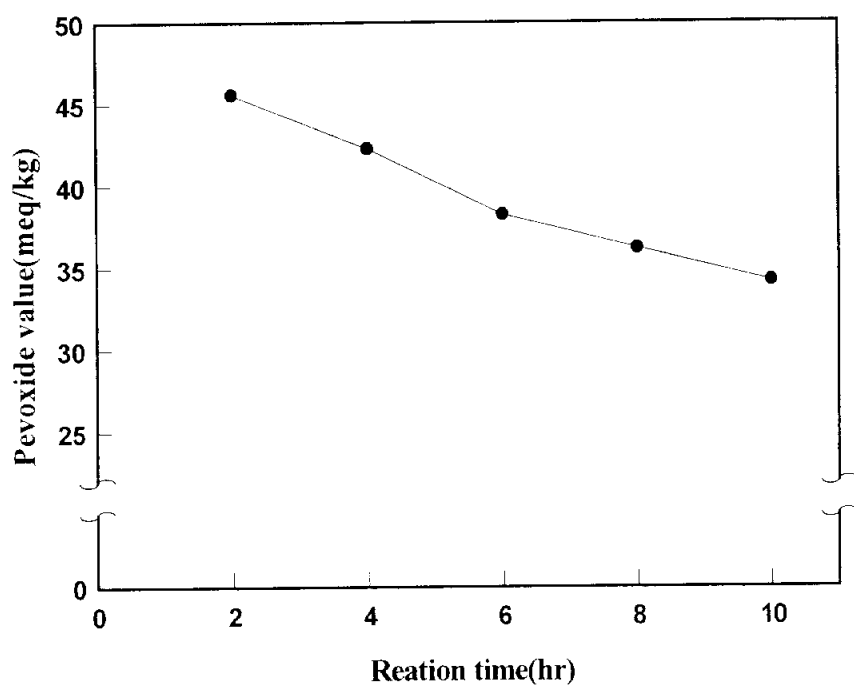


Fig. 10. Changes of peroxide value of ESLP during reaction time.

The concentration of alcalase was 0.4%.

9-2. 산가

ESLP의 효소 농도와 발효시간에 따른 산가의 변화를 Fig. 11에 나타내었다. 반응시간이 2시간, 효소 농도 0.4%일 때 산가는 약 19 KOH mg/g $\pm$ 0.16정도로 나타났고, 이것은 반응시간이 증가할수록 산가가 증가함을 보여 주고 이다. 오징어 내장을 55℃에서 반응시킨 후 건조과정으로 인해 산가가 증가한 것으로 생각된다. 그리고, 현재 생산되고 있는 SLP의 산가는 60 KOH mg/g이하로 나타내고 있다. 이것은 공정 중 가열하여 지질을 제거하는 공정뿐만 아니라 건조과정으로 인해 지질의 산화가 급속하게 나타나 값이 높아졌을 것으로 생각된다. 이것은 효소를 사용하여 만든 사료의 지방산화가 적게 나타남을 보여 줄 것으로 생각된다.

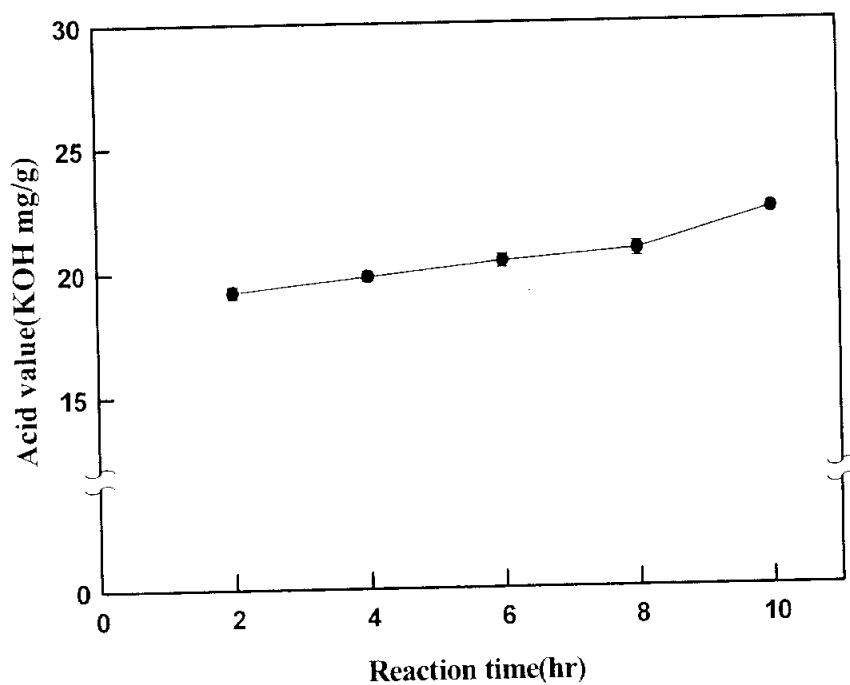


Fig. 11. Changes of acid value of ESLP during reaction time.

The concentration of alcalase was 0.4%.

10. 단가비교

오징어 내장의 지질을 제거하기 위하여 사용할 수 있는 효소를 Table 10에 나타냈다. 앞의 실험에서 사용된 단백질 가수분해효소인 alcalase, neutrase, protamex가 있는데 이중 alcalase를 제외한 나머지 효소에서는 지질제거 효과가 나타나지 않았고 단가적 측면에서도 alcalase 보다 비싼 것으로 나타났다. 그리고 단가적 측면에서 비교적 싼 지방분해효소인 lipase는 지질제거 효과가 나타나지 않았다.

오징어 내장의 가격이 대략 67,500원, 대두박의 가격이 130,000원 그리고 효소의 가격이 9,000원정도로 나타났다. 이것을 기준으로 하여 기존의 방법에서는 오징어 내장과 대두박을 대략 1:1의 비율로 혼합을 하여 사료를 만들고, 효소를 이용한 방법에서는 오징어 내장만을 사용하여 사료 1톤을 만들때의 비용을 비교한 것이 Table 11이다. 효소를 이용한 ESLP의 가격을 100으로 보았을 때 필요한 오징어 내장량과 효소량의 비율을 보면, 오징어 내장이 65.3%, 필요한 효소량이 34.7%가 소요되며, 기존의 SLP 제조시 필요한량을 살펴보면, 오징어 내장의량이 32.6%, 대두단백이 62.8%가 필요한 것으로 나타나 95.4%가 소요되는 것으로 나타났다. 이것을 가격으로 계산하면 기존의 방법이 약 197,500원 정도가 소요되고, 효소를 사용하였을 때는 약 207,000원이 소요되는 것으로 나타났다.

효소를 사용하여 만든 ESLP의 제조 단가적 측면에서 일반적인 SLP의 제조단가와 비슷한 것으로 나타나 생산단가의 절약 효과에서는 큰 효과가 없는 것으로 나타났다. 그러나 Fig. 1. 과 Fig. 2.에서 보는 것과 같이 제조 공정에서 약 4~6공정 정도를 줄일 수 있는 것으로 나타나 초기 시설투자비를 줄일 수 있을 것으로 보여진다.

Table 10. Cost of three commercial proteases and two lipase

Property	Enzyme	Cost(won/Kg)
Protease	Alcalase	9,000
	Neutrase	14,000
	Protamex	40,000
Lipase	Lipase 100T	23,000
	Palatase 20,000L	360,000

Table 11. Comparison of material cost with ESLP and SLP
(%)

	ESLP	SLP
Squid viscera	65.3	32.6
Soybean protein	0	62.8
Enzyme	34.7	0
Cost	100	95.4

IV 요약

1. 연안산 오징어(*Todarodes pacificus*)내장과 원양산 오징어(*Ommastrephes bartrami*)내장의 구성성분을 비교하면, 연안산 오징어 내장의 수분함량이 64.4%, 단백질 함량 15.1%, 지방 함량 16.2%으로 나타났고, 원양산 오징어 내장의 수분함량이 69%, 단백질 함량 15%, 지방함량이 13%정도로 나타났다.
2. 단백질 가수분해 효소인 alcalase, neutrase 그리고 protamex를 사용하여 연안산 오징어 내장과 원양산 오징어 내장의 지질제거 효과를 살펴보면 neutrase을 제외한 alcalase와 protamex는 연안산 오징어 내장에 지질제거효과를 보인반면에 원양산 오징어 내장에서는 모든 효소에서 지질제거 효과를 확인 할 수 없었다.
3. 연안산 오징어 내장의 EPA와 DHA의 함량이 15%, 21%으로 나타났다.
4. Alcalase 농도에 따른 지질 제거율을 살펴보면 0.2%에서는 반응시간 8시간 이후에 약 35%정도, 0.4%에서는 반응시간 2시간일 때 45%정도, 0.6%와 0.8%에서는 반응 2시간일 때 52%정도의 제거율을 보여주었다.
5. 기존의 SLP와 효소를 사용하여 만든 ESLP의 일반성분을 비교하여 보면 기존의 SLP는 수분 10.35%, 단백질 39.85%, 지방이 23.45%인 반

면에 효소를 ESLP는 수분이 10.27%, 단백질 45.87%, 지방이 28.41%로 단백질과 지방의 함량이 높게 나타났다.

6. 효소를 사용한 ESLP의 과산화물가와 산가를 살펴보면 과산화물가는 반응 2시간일 때 5.0 ± 0.24 meq/kg 이하이고, 10시간 이후 부터 급속한 증가를 보여주고 있고, 산가는 반응 2시간일 때 1.39 ± 0.23 KOH mg/g 이하로 나타났고 반응시간이 증가할수록 산가의 값도 증가함을 보여주고 있다. 이것은 반응 10간 이후에는 지방 산화가 거의 일어나지 않았음을 보여 주고 있다. 그리고, 가수분해 후의 EPA와 DHA의 함량을 보면 13%, 19% 정도로 거의 산화가 일어나지 않은 것으로 보여진다.

7. 단가적 측면에서 보면 효소를 사용하였을때나 기존의 방법으로 제조하였을때나 거의 차이가 나타나지 않았다.

결론적으로 Fig. 1. 과 Fig. 2.에서 나타낸바와 같이 기존의 SLP제조 공정보다 효소를 사용한 ESLP제조 공정이 사료를 만드는 공정을 4~6 개 정도의 공정을 줄여 초기 투자 시설비를 줄일수 있을것으로 보여진다. 또한 지질을 제거시 가열하지 않고 효소를 사용하여 지질을 효과적으로 제거하여 제거된 내장유의 사용가능성을 보여주고 있다.

감사의 글

먼저 본 논문이 완성되기까지 많은 조언과 지도로 세심한 도움을 주신 조영제 지도교수님께 깊이 감사의 말씀을 드리고 싶습니다.

그리고, 바쁘신 가운데 항상 관심을 가져주신 장동석 교수님, 김선봉 교수님, 이근태 교수님, 양지영 교수님, 안동현 교수님, 전병수 교수님에게 깊은 감사를 드립니다. 그리고 대학원 진학 할 수 있도록 많은 관심과 조언을 해 주신 고신대학교 강진훈 교수님과 식품영양학 교수님들께 깊은 감사를 드립니다.

또한, 논문의 완성을 위해 끝까지 도와 주시고, 배려해주신 김태진 선배님께 감사드리며, 항상 최선을 다하도록 용기와 조언을 아끼지 않은 동명대학 이남걸 선배님과 조민성 선배님께 감사를 드립니다.

항상 실험실에서 함께 생활한 서덕훈 선배님, 심길보, 박대찬, 그리고 실험실 후배들 이기봉, 주정미, 박정우, 정호진, 이재현, 김윤철, 오상민, 김아영, 정희정, 최고운, 김지연, 권정희, 임형임, 엄혜원, 성화영, 홍운경, 편성식 후배님께도 고마움을 전합니다..

고신대학교에서 같이 진학하여 많은 도움을 준 후배 신조에게도 감사드립니다.

그리고 회사에서 항상 격려해주신 김성래 부장과 직장 동료들에게도 고마움을 전합니다.

끝으로 늘 자식이 잘되기를 간절히 기원하시는 부모님과 항상 믿음으로 지켜봐주던 형과 동생 그리고 형수님과 제수씨께 이 작은 결실을 받칩니다.

V 참고문헌

A.O.A.C. 1980. Official Method of Analysis 14'th ed.

Ackman, R. G., 1982. Fatty acid and composition of fish oils. In
nutritional evaluation of long-chain fatty acids in fish oil. Barlow
& Stansby eds., Academic Press, London, pp25~88.

Cho, S. Y., D. S. Joo, S. H. Park, H. J. Kang and J. K. Jeon. 2000.
Change of Taurine Content in Squid Meat during Squid Processing
and Taurine Content in the Squid Processing Waste Water. J.
Korean Fish. Soc., 33(1), pp51~54.

Hayshi, K. and H. Kishimura. 1993. Preparation of n-3 PUFA ethyl ester
concentrates from fish oil by column chromatography on silicic
acid. Nippon Suisan Gakkaishi. 59, pp1429.

Japan Aquatic Oil Association(JAOA). 1989. Fatty acid composition of
fish and shellfish. KOURIN Co. Inc., Tokyo, pp248~229.

- Jaucey, K., A. G. J. Tacon and A. J. Jackson. 1983. Tilapia in Aquaculture. In Proc. Int. Symp. Nawareth, Iarael, Univ. Tel Aviv, pp328~337.
- Jeong, B. Y. 1993. Isolation and purification of DHA from skipjack orbital tissue oil. Bull. Korean fish. Soc., 26(6), pp529~537.
- John, E. K. 1987. Seafoods and fish oil in human health and disease. Academic press., pp107~192.
- Kim, E. M., J. H. Jo, S. W. Oh and Y. M. Kim. 1997. Characteristics of Squid Viscera Oil. J. Korean Fish Soc., 30(4), pp595~600.
- Kim, H. R., C. B. Ahn, D. S. Lee, D. S. Kim and J. H. Pyeun. 1995. Processing of Protein Concentrate and Recovery of Bioactive n-3 Series Fatty Acids from Squid Viscera. Bull. Nat. Fish. Res. Dev. Agency. 51, pp95~112.

- Kim, J. D. 1991. Study to compare the loading levels of total sludges, proteins and phosphorus to water by carp (*Cyprinus carpio*) fed several commercial feeds. Kor. J. Anim. Nutr. Feed., 15(3), pp151~162.
- Kim, J. D. and K. S. Kim. 1995. Effects of dietary monocalcium phosphate on nutrient digestibility of mirror carp (*Cyprinus carpio*). Kor. J. Anim. Nutr. Feed., 19(2), pp109~115.
- Kim, K. W. and S. C. Bai. 1999. Possible Use of Dietary Fish Meal Analogue Rockfish, *Sebastes schlegeli*. J. Korean Fish Soc., 32(2), pp380~385.
- Lee, J. K. and S. M. Lee. 1996. Effects of the Dietary Protein and Energy Levels on Growth in Fat Cod (*Hexagrammos otakii* Jordan et Starks). J. Korean Fish Soc., 29(4), pp464~473.
- Lee, S. M., I. G. Jeon and J. Y. Lee. 1996. Comparison of Various Fish Meals as Dietary Protein Sources for Korean Rockfish, *Sebastes schlegeli*. J. Korean Fish Soc., 29(2), pp135~142.

- Lee, S. M., S. R. Park, T. J. Kim, J. I. Myeong and Y. J. Chang. 1998. Effects of Deletion of P, Ca, Zn, Mg, Fe, K, Mn, or Se from Mineral Premix in the Diets Containing 40% Fish Meal on Growth Performance of Juvenile Korean Rockfish (*Sebastes schlegeli*). J. Korean Fish Soc., 31(2), pp252~258.
- Lee, S. M., Y. S. Lim, J. K. Lee, S. R. Park, J. I. Myeong and Y. J. Park. 1999. Effects of Supplemental Squid Meal, Attractant, Herb or Lecithin in the Formulated Diets on Growth Performance in Juvenile Abalone (*Haliotis discus hannai*). J. Korean Fish. Soc., 32(3), pp290~294.
- Lee, Y. S. 1994. Nutritional and biochemical roles of $\omega 3$ series fatty acids. J. Korean Fish Soc., 27(6), pp600~615.
- Mochizuki, H., H. Oda and H. Yokogoshi. 1998. Increasing effect of dietary taurine on the serum HDL-cholesterol concentration in Rats. Biosci. Biotechnol. Biochem., 62(3), pp578~579
- NRC. 1993. National Academy Press. Washington D. C., pp63
- Ogino, C., Bull. 1980. Jap. Soc. scient. Fish., 46, pp385~388.

Sugiyama, K., H. Kanamori and H. Takeuchi. 1992. Effect of cholesterol-loading on plasma and tissue levels in rats. Biosci. Biotechnol. Biochem., 56(4), pp676~677.

Wiseman, J. E. 1984. Fats animal nutrition. Butterworth, pp23~52.

順山 三千三, 鴻巢 章二, 浜部 基次, 奥田 行雄. 1983. イカの利用. 恒星社厚生閣. pp52~100.

日本油脂學會. 1983. 基準油脂分析試験法. 1.1.3. pp4~83

한국단미사료협회. 1997. 단미회보.

해양수산부. 1997. 해양수산통계연보. pp978~991.