



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

碩士學位論文

제주산 마유의 추출과
불포화지방산 및 포화지방산 분리

Extraction of Jeju Horse oil and
Fractionation of Unsaturated Fatty
acids and Saturated Fatty acids

濟州大學校 大學院

食品工學科

洪 東 完

2019年 2月

제주산 마유의 추출과 불포화지방산 및 포화지방산 분리

指導教授 千 智 連

洪 東 完

이 論文을 工學 碩士學位 論文으로 提出함

2018年 12月

趙萬宰의 工學 碩士學位 論文을 認准함

審査委員長 金 賢 貞

委 員 任 尙 彬

委 員 千 智 連



濟州大學校 大學院

2019年 2月

제주산 마유의 추출과 불포화지방산 및 포화지방산 분리

Dong-Wan Hong
(Supervised by Professor Ji-Yeon Chun)

A thesis submitted in partial fulfillment of the requirement for the degree of
Master of Engineering

2018. 12.

This thesis has been examined and approved.

Hyun Jung Kim, Thesis director, Prof. of Food Science and Engineering

Sang-Bin Lim, Prof. of Food Science and Engineering

Ji-Yeon Chun, Prof. of Food Science and Engineering

Dec. 2018

Department of Food Science and Engineering

GRADUATE SCHOOL

JEJU NATIONAL UNIVERSITY

CONTENTS

ABSTRACT	1
LIST OF FIGURES	3
LIST OF TABLES	4
1. 서론	5
2. 재료 및 방법	8
2.1. 마유 제조	8
2.2. 마유의 불포화지방산과 포화지방산 분리	10
2.3. 마유 이화학특성관찰	10
2.3.1. pH	10
2.3.2. 산가	10
2.3.3. 과산화물가	11
2.3.4. Thiobarbituric Acid Assay (TBA)	11
2.3.5. 요오드가	12
2.3.6. 지방산조성	12
2.3.7. 냉각곡선 및 운점(Cloud point)	13
2.3.8. 시차주사열량법(DSC)에 의한 열분석	13
2.3. 가속화 실험을 통한 유통기한 산출	13
2.4. 통계처리	13
3. 결과 및 고찰	14
3.1. 녹차잎의 첨가농도, 저장온도, 저장기간에 따른 마유의 특성관찰	14
3.1.1. pH	14
3.1.2. 산가	16
3.1.3. 과산화물가	18
3.1.4. Thiobarbituric Acid (TBA)	20
3.1.5. 요오드가	22

3.1.6.	지방산조성.....	24
3.1.7.	가속화 실험에 의한 마유의 유통기한 설정	28
3.2.	마유의 불포화지방산과 포화지방산 분리	30
3.2.1.	냉각곡선과 운점(Cloud point)	28
3.2.2.	요오드가.....	32
3.2.3.	시차주사열량법(DSC)에 의한 열분석	34
4. 결 론	36
국문요약	37
REFERENCES	39

ABSTRACT

Horse oil has been recently interested in the cosmetic and food industry. However, there is not enough scientific evaluation of horse oil properties. And the fatty acid composition of horse oil is quite different with other animal fats derived from pork, beef, chicken, so it affects horse oil quality by lipid oxidation and rheological properties under a certain temperature. Therefore, this study was conducted to investigate the properties of horse oil extracted by hot water extraction and saturated and unsaturated fatty acid of extracted horse oil was separated by low-temperature crystallization.

First, hot water extraction which is safest among various extraction methods for further application on food or cosmetic products was selected to extract horse oil. Horse oil was extracted with various amount of green tea leaves (0, 1, 5, 10%) and then it was observed the change of horse oil properties especially lipid oxidation according to different storage temperature (5, 25, 60°C) for 35 days. Green tea leaves addition did not show significant effect than expected except TBA value. Storage temperature was more influential factor in horse oil quality. At 60°C, lipid oxidation of horse oil was easily generated namely, pH, acid value, and peroxide value showed the highest lipid peroxidation. TBA value showed that a higher concentration of green tea leaves was effective to inhibit lipid peroxidation by delaying malondialdehyde generation. In iodine value results, it was about 55 to 75 at all samples which is higher than pork fat or beef fat. The fatty acid composition of horse oil was about 41% saturated fatty acid and 54% unsaturated fatty acid, but the fatty acid composition was not significantly different according to treatments. As iodine value and fatty acid composition results shows, horse oil contained more unsaturated fatty acid compared with other animal fats. As a result of calculating the shelf life of the peroxide

value as a quality index, the shelf life of about 6 months was calculated.

Secondly, the saturated and unsaturated fatty acid of extracted horse oil (control) was separated by low-temperature crystallization, and then cooling curve, cloud point, iodine value, thermal property by DSC was evaluated. Solid phase and liquid phase were separated during low-temperature crystallization processing. Before separation, the cloud point of horse oil was near 25.6°C (54.3 min) and after separation, cloud point of the liquid phase and solid phase was observed at around 7.6°C (289.7 min) and 29.4°C (36.5 min), respectively. Iodine value was highest at liquid phase horse oil as expected ($p < 0.05$). In cooling thermogram, crystallization temperature was observed at -2.11°C in liquid phase horse oil, -0.11°C and 14.59°C in whole horse oil), 2.55°C and 21.95°C in solid phase horse oil. In heating thermogram, melting temperature was measured at 2.74°C in liquid phase horse oil, -1.62°C and 21.8°C in whole horse oil), 1.01°C and 39.54°C in solid phase horse oil. After separation of saturation fatty acid, crystallization of horse oil occurred lower temperature and melting temperature of horse oil was higher.

In this study, horse oil properties were observed that storage temperature was more effective factor to change lipid peroxidation of horse oil than addition of natural antioxidative material or storage time. And horse oil was certainly higher iodine value than other animal fat. Namely, lipid peroxidation of horse oil would be easily generated. To separate fatty acid of horse oil low-temperature crystallization method was quite easy and effective. In a further study, it needs to observe more specific properties like oxidative stability, phase change, morphological structure. And liquid phase or solid phase of horse oil should be applied to food or cosmetic production processing.

LIST OF FIGURES

- Fig. 1. Production of horse oil by using hot water extracti····· 9
- Fig. 2. The pH change of extracted horse oil depending on concentration of green tea leaves (A: control, B: 1%, C: 5%, D: 10% by horse fat weight) during 35 days at 5, 25, and 60°C ·····15
- Fig. 3 The acid value change of extracted horse oil depending on concentration of green tea leaves (A: control, B: 1%, C: 5%, D: 10%, by horse fat weight) during 35 days at 5, 25, and 60°C···17
- Fig. 4. The peroxide value change of extracted horse oil depending on concentration of green tea leaves (A: control, B: 1%, C: 5%, D: 10%, by horse fat weight) during 35 days at 5, 25, and 60°C···19
- Fig. 5. The TBA value change of extracted horse oil depending on concentration of green tea leaves (A: control, B: 1%, C: 5%, D: 10%, by horse fat weight) during 35 days at 5, 25, and 60°C···21
- Fig. 6. The iodine value change of extracted horse oil depending on concentration of green tea leaves (A: control, B: 1%, C: 5%, D: 10%, by horse fat weight) during 35 days at 5, 25, and 60°C···23
- Fig. 7. Cooling curve and cloud point of horse oil (A) before separation and (B) liquid phase and (C) solid phase of horse oil after separation by low-temperature crystallization ····· 31
- Fig. 8. Iodine value of extracted horse oil before and after separation by low-temperature crystallization ····· 33
- Fig. 9. Thermal properties of extracted horse oil before and after crystallization separation by low-temperature crystallization (A: cooling thermograms, B: melting thermograms) ····· 35

LIST OF TABLES

Table 1-1.	Analysis of fatty acid composition of horse oils extracted with adding various concentration of green tea leaves at 5°C storage temperature	25
Table 1-2.	Analysis of fatty acid composition of horse oils extracted with adding various concentration of green tea leaves at 25°C storage temperature	26
Table 1-3.	Analysis of fatty acid composition of horse oils extracted with adding various concentration of green tea leaves at 60°C storage temperature	27
Table 2.	Prediction of shelf life of horse oil.....	29

1. 서론

대표적인 동물성 지방인 돈지와 우지는 일반적으로 불포화지방산보다 포화지방산 함량이 높은 것(Yang et al, 2007)으로 알려져 있으며, 이와 반대로 마지는 포화지방산보다 불포화지방산 함량이 높으며 추출된 마유의 경우 알레르기성 접촉성 피부염, 피부 표피각화증, 그람양성세균에 대한 항균 및 항염증에 효과적이라는 연구결과(Lee et al, 2013; Choi et al, 2014)로 인해 주로 화장품의 원료로 사용되고 있다. 사람처럼 땀을 분비하여 온도를 조절하는 말의 지방에서 추출한 기름을 ‘마유’라 부르며, 마유는 linoleic acid, palmitoleic acid 등의 불포화지방산 비율이 약 60%정도로 사람피부의 지방산 조성과 비슷하다. 이러한 유사성으로 인해 사람피부조직으로의 침투 및 흡수가 빠른 장점이 있다. 또한 사람의 피부에서 분비되는 피지의 중요 성분인 palmitoleic acid 함량이 다른 동물성 유지보다 높아 항균, 항염 작용을 하여 피부를 보호(Kim, 2015)하고 ceramide 또한 중요 성분 중 하나로 지질층의 수분 증발을 막아주는 보습력이 있어 화장품 원료로 사용되고 있다(Ahn & Oh, 2013). 최근 피부에 대한 마유의 효과가 알려지면서 마유에 대한 관심이 급격하게 높아지고 있다. 그러나 상업적으로 초점이 맞추어져 제품화를 위한 가공공정 위주의 특허발표가 대부분이며, 마유를 사용하기 위한 기초적인 마유 추출공정과 마유의 이화학적특성 등에 대한 기본적인 연구는 미흡한 실정이다. 그리하여 충분한 과학적인 연구 및 증명 없이 제품화된 마유 화장품에서 문제점이 발생하고 있다. 즉, 마유는 1) 특유의 이취로 인한 문제가 있으며, 포화지방산 보다 불포화지방산의 조성비가 더 높기 때문에 2) 지방산패가 일어나기 쉬우며, 3) 보관온도에 따라 상변화 현상이 발생한다.

유지의 산화형 산패는 산소가 유지의 불포화지방산의 불포화결합 부분에 결합하여(자동산화) 하이드로과산화물을 생성하고 이 반응이 연쇄적으로 진행하여 불포화결합이 절단됨으로써 저급 불포화의 알데히드·유리 지방산·케톤 등이 생성되어 악취를 발생한다. 식용유지의 산패는 지방산조성비 뿐만 아니라 가공 및 저장 중에도 산화가 진행되어 과산화물이 생성, 중합체 형성, 필수지방산의 감소, 이취가 발생 등에 의해 일어난다(Park et al, 2001). 주로 불포화지방산을 많이 함유

한 유지에서 일어나기 쉽고, 빛·열·금속 등에 의해 반응이 촉진된다. 산화방지제(항산화제)를 첨가하면 산패를 방지할 수 있다. 항산화제는 일반적으로 산화를 억제하는 물질이며, 생체내의 여러 생리적 장애 또한 억제가 가능한 것으로 알려져 있다(Shin, 1997). 초기에는 합성 항산화제인 butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT)등을 사용하였지만 최근 소비자들의 합성항산화제에 대한 부정적인 인식과 이를 대체할 수 있는 천연항산화제에 대한 관심이 증가함에 따라 항산화능을 가진 감귤, 오미자, 녹차잎 등 여러 천연물들이 연구되어지고 있으며(Rhi and Shin, 1993; Jeong et al, 2004; Kwon & Park, 2008; Lee, 2016), 그 중 녹차잎은 Teaceac 종의 Camellia과에 속하며 약 80%의 수분과 약 20%의 단백질, 아미노산, 섬유소, 펙틴, 탄닌과 카페인등의 고형분으로 이루어져 있으며(Lee, 2016), polyphenol류에 속하는 epicatechin (EC), epicatechin gallate (ECG), epigallocatechin (EGC), epigallocatechin gallate (EGCG)의 여러 카테킨 성분을 함유하고 있다(Rhi & Shin, 1993).

이중결합이 두 개 이상인 다가불포화지방산은 필수지방산으로써 인체가 합성할 수 없어 섭취해야만 하는 지방산이며, 생선기름에 많은 오메가-3계열인 eicosapentaenoic acid (EPA)과 docosahexaenoic acid (DHA)는 심혈관계통의 질환예방을 예방하고 뇌세포조직 구성 지방산으로서 뇌 발달과 치매예방에 도움을 주며, 식물성 기름에 많은 오메가-6계열은 조직과 세포의 기능을 정상적으로 유지시켜주는 prostaglandin 호르몬을 만드는 지방산으로 인체에 유익한 영향을 준다(Han, 2003). 포화지방산에 비해 불포화지방산은 많은 생리효과를 가지고 있지만 반응성이 커서 산패가 잘 발생하는 단점이 있으며, 특히 오메가-6계열과 유사한 고도불포화지방산인 오메가-3계열의 경우 어패류의 지질로서 가공 및 저장시 쉽게 산화, 분해되어 변색되거나 이취가 발생하고 단백질 변성 등 여러 문제점을 야기 시켜 품질저하를 일으킨다는 보고가 된 바 있다.(Lee et al. 1997). 이러한 문제점을 보완하기 위해 Lee & Lee (1990)의 연구에서는 고도불포화지방산을 많이 함유하고 있는 냉동 고등어에 양파와 생강즙을 처리하여 6주간 냉동저장하며 산패도와 지방산 조성의 변화를 관찰하였다.

라드와 같은 동물성지방과 콩기름과 같은 식물성지방간의 물성은 크게 다른 이유는 지방의 구성분인 지방산의 특성이 다르기 때문이다. 지방산의 탄소수, 포

화지방산과 불포화지방산의 비율, 이중결합수가 지방의 물성에 크게 영향을 미친다. 일반적으로 실온에서 포화지방산 비율이 높은 지방은 주로 고체로 존재하고, 불포화지방산이 많이 함유된 지방은 액체로 존재할 가능성이 높다. 즉, 포화지방산의 경우 단일결합만으로 이루어져 녹는점이 높아 상온에서 고체이며, 하나 이상의 이중결합으로 이루어진 불포화지방산의 경우 녹는점이 낮아 상온에서 액체 상태로 존재하게 된다(Kim et al. 2013). 다시 말해서, 다양한 지방산들은 각각 고유의 녹는점(융점, melting point)이 있기 때문에 외부 온도에 따라 물성이 달라진다.

특히 마유는 다른 동물성 유지보다 불포화 지방산 조성비가 높아 상대적으로 온도에 따라 쉽게 고체상에서 액체상으로 바뀌게 되는데, 제품의 품질(물성, 지방산패, 위생 등)을 저하시키는 요인이 될 수 있다. 그러므로 지방산의 조성비를 조절하여 외부환경에 의한 지방의 물성변화를 통제하는 것이 필요하다.

분별(Fractionation)은 두 가지 이상의 성분이 혼합되어 있는 물질을 분리하는 방법으로 주로 특정 성분의 영양을 향상 시키는 목적으로 이용되며, 유지를 분리하는 방법으로는 온도에 따른 녹는점과 용매에 대한 용해도를 이용한 결정화법 및 증류법, 크로마토그래피 등이 있다(Fontell et al. 1960). 저온 결정화법은 winterization과 동일한 원리로 이루어지나 최종 목적이 다르다. winterization은 일반 식용유지를 저온에서 저장하면서 높은 녹는점을 갖는 고체지방을 제거하여 품질을 향상시키는 것이 목적이고, 저온결정화법은 분리하고자 하는 유지의 결정핵을 모두 소거한 후 냉각시키면서 결정을 형성시켜 슬러리상태로 만든 후, 고체상과 액체상을 분리하는 방법으로 결정의 형성이 지방산 조성, 온도, 시간, 교반 속도에 따라 결정이 생성된다(Deffense E, 2000; Jeong et al. 1997).

본 연구의 최종 목적은 마유 특성에 대한 과학적 자료를 제공하기 위함이며, 세부적으로는 향후 식품 혹은 화장품에 적용하기 위해 물을 추출용매로 하는 열수추출법을 이용하여 마유를 추출하고자 하였으며, 이때 녹차잎 첨가농도, 저장 온도, 저장기간을 달리하면서 마유의 지방산패변화 및 지방산조성 변화에 대해 관찰하고자 하였다. 그리고 추출된 마유의 불포화지방산 순도를 높이기 위해 저온결정화법을 이용하여 포화지방산과 불포화지방산을 분리하여 분리된 마유의 이화학적 특성을 관찰하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 마유 제조

마지는 제주지역의 말목장에서 도축 및 발골 후 진공 포장된 것을 구매하여 -20°C 냉동고에서 보관하며 사용하였으며, 녹차잎은 제주도산 건조 녹차잎(제조원: Osulloc, 판매원: (주)허브인코리아)을 구매하여 냉장 보관하며 사용하였다.

마유의 제조는 전처리, 추출, 정제(탈검, 탈산, 수세, 여과) 공정 순으로 진행하였다. 추출 전 증류수와 마지를 1:1 무게비율로 혼합 후 분쇄기(HMF-3600TG, HANIL, Bucheon, Korea)를 사용하여 분쇄하였다. 증류수와 함께 분쇄된 마지 중량의 0%(대조구), 1%, 5%, 10% 녹차잎을 첨가하여 가열교반기(MSH-20D, DAIHAN Scientific CO., Ltd, Wonju, Korea)를 사용하여 $90^{\circ}\text{C}\pm 2$ 에서 1시간 동안 열수추출 하였다. 추출 후 분별 깔때기와 거즈를 이용하여 마유와 증류수를 1차 분리 후 분리한 유지를 3,500 rpm, 25°C , 10분 동안 원심분리하여 상등액을 취하여 2차 분리 하였다. 탈검공정을 위해 추출 된 마유 중량의 2%의 증류수를 첨가한 후 가열교반기를 사용하여 50°C , 600 rpm에서 1시간 중탕하였다. 탈산공정을 위해 3,500 rpm, 25°C , 15분 동안 원심분리하여 상등액을 취한 후 탈검한 마유 중량의 1%의 3 M NaOH 수용액을 마유에 첨가하여 가열교반기를 사용하여 50°C , 300 rpm에서 30분 동안 중탕하였다. 그 후 3,500 rpm, 25°C , 15분 동안 원심분리하여 상등액을 취했다. 탈산한 마유의 수세를 위해 마유 중량과 같은 양의 끓인 증류수를 첨가하여 가열교반기를 사용하여 450 rpm으로 30분 동안 교반하면서 수세하였다. 마지막으로 3,500 rpm, 25°C , 15분 동안 원심분리를 하고 상등액만을 취하여 정제 마유를 제조하였다(Fig. 1). 정제 마유는 가속화 실험을 위해 5°C , 25°C , 60°C 에서 총 35일 동안 저장하면서 마유의 산패 특성을 관찰하였다.

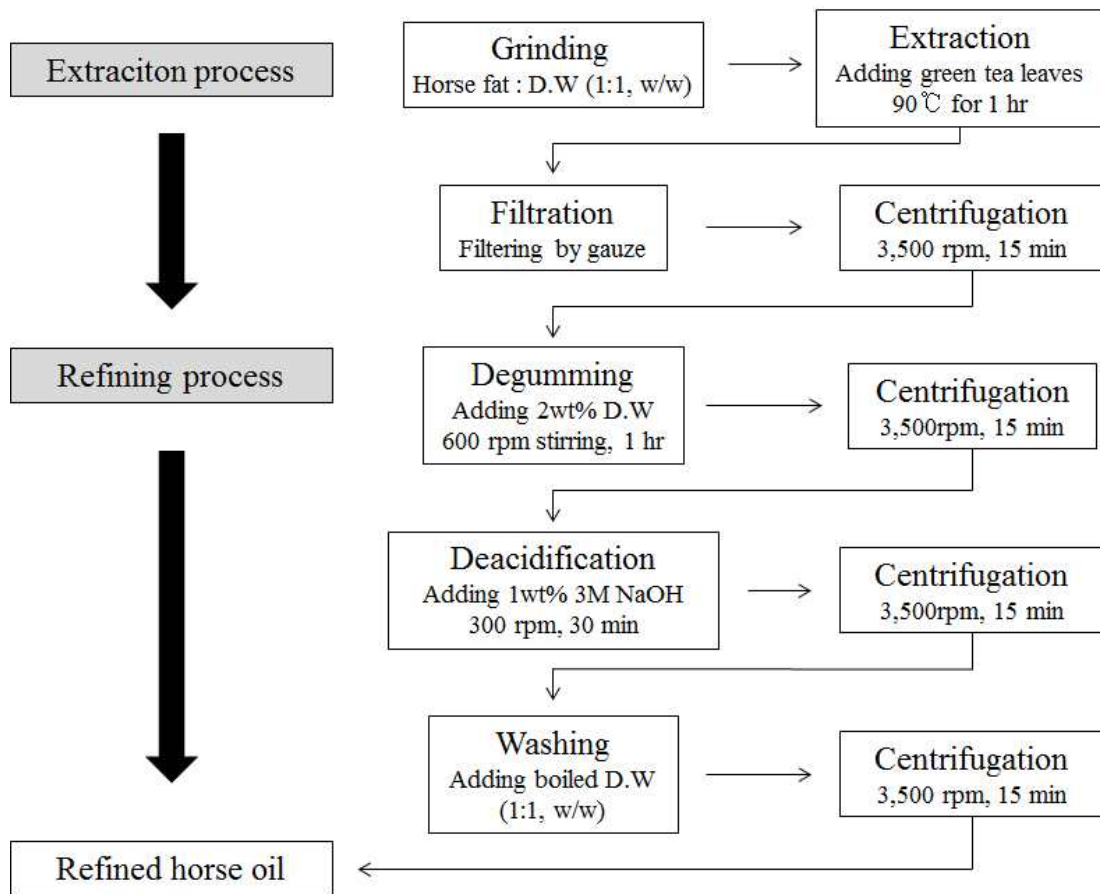


Fig. 1. Production of horse oil by using hot water extraction method.

2.2. 결정화법을 이용한 마유의 불포화지방산과 포화지방산 분리

마유의 불포화지방산과 포화지방산의 결정화 분리는 녹차잎을 첨가하여 추출한 마유들 간의 지방산 조성이 큰 차이를 보이지 않아 녹차잎을 첨가하지 않고 추출한 마유(대조구)를 사용하였으며, Lee et al (2012)의 연구를 참고하여 일반적으로 동물성 지방에 가장 많이 함유되어 있는 Oleic acid (C18:1n9c)를 분리하기 위하여 Oleic acid의 녹는점인 15°C(Knothe & Dunn, 2009)에서 결정화 분리를 진행하였다. 마유의 분리는 Zaliha, O(2004)의 연구방법을 본 연구에 맞게 수정하여 실행하였다. 녹차잎을 첨가하여 추출한 마유들 간의 지방산 조성이 큰 차이를 보이지 않아 녹차잎을 첨가하지 않고 추출한 마유(대조구)를 사용하였으며, 1시간동안 70°C에서 결정핵을 완전히 소거 시킨 후 15°C로 설정된 저온항온순환수조(RW3-2035, JEIOTECH, Daejeon, Korea)에서 교반 시키며 전자온도계(CENTER 301 type K thermometer, CENTER, New Taipei City, Taiwan)를 사용하여 마유의 내부 온도가 15°C가 된 후 30분간 안정화 시켰다. 그 후 고체상과 액체상이 공존하는 슬러리상의 마유를 진공펌프(WOB-L[®] 2546C-10, WELCH, Furstenfeldbruck, Germany)와 진공여과장치를 사용하여 분리된 고체상을 취하고, 분리된 액체상은 3500 rpm, 15°C, 15분 동안 원심분리하여 상등액만을 취하여 시료로 사용하였다.

2.3. 마유 이화학특성관찰

2.3.1. pH

pH 측정기 testo 205 (testo, Lenzkirch, Germany)의 센서가 잠길 수 있도록 50 mL 튜브에 약 40°C의 마유를 넣어준 후 측정하였으며, 3회 반복하여 평균값으로 산출하였다.

2.3.2. 산가

마유 5 g에 ethanol:ethyl-ether (1:1) 혼합용액 100 mL 첨가 후 1% phenolphthalein 지시약 2-3방울 첨가하여 0.1 N KOH-ethanol으로 열린 홍색이 30초간 지속될 때까지 적정하였고, 3회 반복하여 평균값으로 산출하였다.

$$\text{산가}(\text{mgKOH/g}) = \frac{5.611 \times (a-b) \times f}{S}$$

a : 검체에 대한 0.1N KOH-ethanol 적정소비량(mL)

b : 공시험에 대한 0.1N KOH-ethanol 적정소비량(mL)

S : 검체의 채취량(g)

f : 0.1N KOH-ethanol 역가

2.3.3. 과산화물가

마유 3 g에 acetic acid:chloroform (3:2) 혼합용액 25 mL 첨가하여 마유를 녹인 후 potassium iodine 포화용액 1 mL을 첨가하여 섞은 후 암소에서 10분간 방치하였다. 그 후에 증류수 30 mL를 첨가하여 섞은 후 1% 전분지시약 1 mL 첨가한 후 0.01 N sodium thiosulfate 용액으로 무색이 될 때까지 적정하였고 3회 반복하여 평균값으로 산출하였다.

$$\text{과산화물가}(\text{meq/kg}) = \frac{(a-b) \times f}{S} \times 10$$

a : 검체에 대한 0.01N Sodium thiosulfate 적정소비량(mL)

b : 공시험에 대한 0.01N Sodium thiosulfate 적정소비량(mL)

S : 검체의 채취량(g)

f : 0.01N Sodium thiosulfate 역가

2.3.4. Thiobarbituric Acid Assay (TBA)

마유 3 g을 50 mL Tube에 취한 후, Benzene 10 mL를 첨가하여 충분히 용해한 후 0.2 M TBA 시약 10 mL를 첨가 한 후 4분간 암소에 방치하였다. 그 후 1000 rpm으로 3분간 원심분리를 한 후 하등액을 채취하여 95°C 항온수조에서 30분간 가열한 후 흐르는 물에 냉각 후 microplate reader (BioTek Instruments, Inc., Winooski, Vermont, USA)를 사용하여 530 nm에서 3회 반복하여 평균값으로 산출하였다.

$$\text{TBA가} = \frac{(a-b) \times 3 \times 100}{3}$$

a : 검체의 흡광도

b : 공시험의 흡광도

S ; 검체의 채취량(g)

2.3.5. 요오드가

마유 0.3 g을 chloroform 15 mL에 용해 한 후 Wijs 시액 25 mL을 첨가 한 후 섞은 후 30분간 암소에 방치하였다. 그 후 1 N potassium iodine 용액 20 mL와 증류수 100 mL를 첨가하여 섞은 후 0.1 N sodium thiosulfate 용액으로 무색이 될 때까지 적정하였고, 3회 반복하여 평균값으로 산출하였다.

$$\text{요오드가(g iodine/100g oil)} = \frac{(b-a) \times f \times 1.269}{S}$$

a : 검체에 대한 0.1N Sodium thiosulfate 적정소비량(mL)

b : 공시험에 대한 0.1N Sodium thiosulfate 적정소비량(mL)

S : 검체의 채취량(g)

f : 0.1N Sodium thiosulfate 역가

2.3.6. 지방산조성

정제마유의 지방산 조성은 식품공전((Ministry of Food and Drug Safety, 2018)에 명시된 시험방법으로 GC/FID(gas chromatograph/flame ionization detector)를 이용하여 분석하였다. 칼럼은 SP-2560 (100 mm × 0.25 mm × 0.2 μm)를 사용하고, 주입부 온도는 225°C로 설정하였다. 칼럼온도는 100°C에서 4분 간 유지한 후 3°C/min의 비율로 240°C까지 온도를 상승시킨 후 15분 이상 유지 하였다. 검출기 온도는 285°C, 유량은 0.75 mL/min, split ratio는 200 : 1 설정하여 측정하였다.

2.3.7. 냉각곡선 및 운점(Cloud point)

고체상과 액체상으로 분리된 마유는 운점 측정을 위해 130°C까지 가열한 마유를 교반기의 온도센서를 이용하여 시간과 온도를 기록하여 냉각곡선을 작성하였다. 운점은 AOCS official method Cc6-25 (AOCS, 1990)에 따라 마유를 130°C까지 가열하여 결정핵을 완전히 소거시킨 후 15°C에서 교반기(MSH-20D, DAIHAN Scientific CO., Ltd, Wonju, Korea)를 이용하여 교반하며 결정화가 시작되는 온도를 측정하였다. 결정화 시작점은 비커를 수평으로 보았을 때 온도계가 보이지 않는 시점으로 하였다.

2.3.8. 시차주사열량법(DSC)에 의한 열분석

분리된 고체상과 액체상의 열적특성은 Zaliha et al. (2004)의 방법을 참고하여 본연구에 맞게 수정하여 진행하였다. 마유를 70°C에서 10분간 유지하여 결정핵을 완전히 소거시킨 후 -40°C까지 5°C/min의 속도로 냉각을 시킨 후 -40°C에서 10분간 유지시킨 후 70°C까지 5°C/min의 속도로 가온하여 냉각과 가열 과정동안에 발생하는 열적특성에 대해 관찰 하였다.

2.4. 가속화 실험을 통한 유통기한 예측

정제마유의 유통기간 설정은 식품안전나라의 식품 유통기간 설정 프로그램 (<http://www.foodsafetykorea.go.kr>)을 사용하여 냉장온도인 5°C, 상온인 25°C와 가속화 실험을 위한 60°C의 저장온도에서 저장하며 측정하였으며, 품질 지표로는 과산화물가 결과값을 등록하여 기상청 전국 월평균 기온(2014년-2016년)으로 유통 온도를 적용하여 유통기한을 예측하였다.

2.5. 통계처리

통계분석은 Minitab ver. 16(Minitab 16 Inc., State College, Pennsylvania, USA)를 이용하여 분산분석(One-way analysis of variance)을 실시하여 Mean±SD로 나타냈으며 각 측정 평균값 간의 유의성은 $p < 0.05$ 수준으로 Tukey's multiple range test를 통하여 실시하였다.

3. Results and Discussion

3.1. 녹차잎의 첨가농도, 저장온도, 저장기간에 따른 마유의 특성관찰

3.1.1. pH

녹차잎의 첨가농도, 저장온도, 저장기간에 따른 마유의 pH값은 Fig. 2에 농도에 따라 각각 나타내었다. 5°C와 25°C에서 저장한 마유들의 경우 모두 pH 6 이상의 값을 나타냈으나 60°C 고온저장의 경우 급격하게 pH가 낮아져 약 pH 4.6까지 감소하였다. 녹차잎 첨가농도에 따른 큰 차이는 없는 것으로 보이고, 저장온도 및 저장기간에 따른 변화를 보였다. 국립축산과학원에서 진행된 연구에 의하면 조추출 마유 크림을 4, 25, 40°C에서 60일간 저장한 결과 저장기간이 증가함에 따라 유의적으로 pH가 낮아졌으며, 특히 40°C에서 저장한 처리군에서는 저장 60일차 pH는 4.85까지 급격하게 낮아짐을 관찰하였다(National Institute of Animal Science, 2016). 마유를 고온에서 저장시 지방의 가수분해가 촉진되어 생성된 유리지방산으로 인해 pH가 급격히 감소하는 것으로 사료되며 pH의 변화는 마유의 산화속도에 영향을 줄 것으로 사료된다.

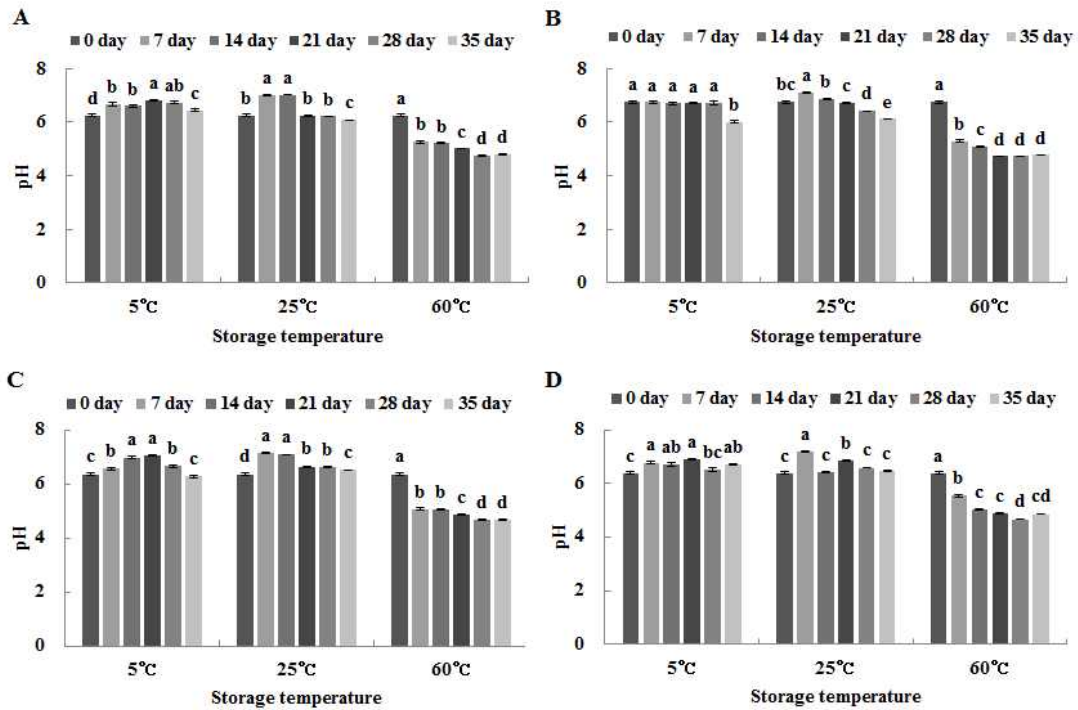


Fig. 2. The pH change of extracted horse oil depending on concentration of green tea leaves (A: control, B: 1%, C: 5%, D: 10% by horse fat weight) during 35 days at 5, 25, and 60°C. Value with different small letters are significantly different according to storage day of same concentration and temperature, respectively by Tukey's multiple range test ($p < 0.05$).

3.1.2. 산가

산가는 유지 1 g 에 함유되어 있는 유리지방산을 중화 시킬 때 필요한 KOH의 mg수로, glycerol과 결합하지 않은 상태의 유리지방산의 양을 측정하여 유지의 산패도를 측정하는 방법이다(Lee et al, 2006). 녹차잎의 첨가농도, 저장온도, 저장기간에 따른 마유의 산가값은 Fig. 3에 농도에 따라 각각 나타내었다. 대조구와 실험구 모두 5°C와 25°C에서 저장한 경우 농도에 따른 차이는 크게 보이지 않았으며, 저장기간 동안 0.05 이하의 매우 낮은 값을 나타내었다. 60°C에서 저장한 경우 대조구와 실험구 모두 증가하는 경향을 나타내었으며, 0.2 전후의 최대값을 나타내었다. 식품공전의 식용우지와 식용돈지의 산가 기준의 경우 각각 0.3 이하와 4.0 이하의 규격을 가지고 있으며, 기타동물성유지의 경우 0.6이하의 규격을 가지고 있다(Ministry of Food and Drug Safety, 2017). 본 연구에서 관찰한 대조구와 실험구 모두 저장기간 동안 동물성 유지의 규격보다 낮은 결과를 나타내었는데, 이는 탈산공정에 의해 유리지방산이 제거되어서 나타난 결과로 사료된다. Ryu & Kwon (2012)의 연구에서는 최적의 탈산조건을 찾기 위하여 NaOH 농도 및 첨가량과 반응온도에 따른 실험을 한 결과 농도에선 3M의 NaOH, 첨가량에 있어서는 1%에서 유리지방산 제거 효율이 가장 뛰어났다고 보고한 바가 있으며, 본 연구에서도 동일한 농도의 NaOH를 탈산공정에 이용하였다. 유리지방산은 유지의 산패, 가열 분해 중 형성되어 향미에 영향을 미치며 자동산화 촉진, 발연점 저하 등의 부수적인 품질저하를 일으키게 되는 요인이기 때문에(Lee et al, 2012) 품질적으로 우수한 마유를 추출하기 위해 반드시 탈산공정이 필요하다고 판단된다.

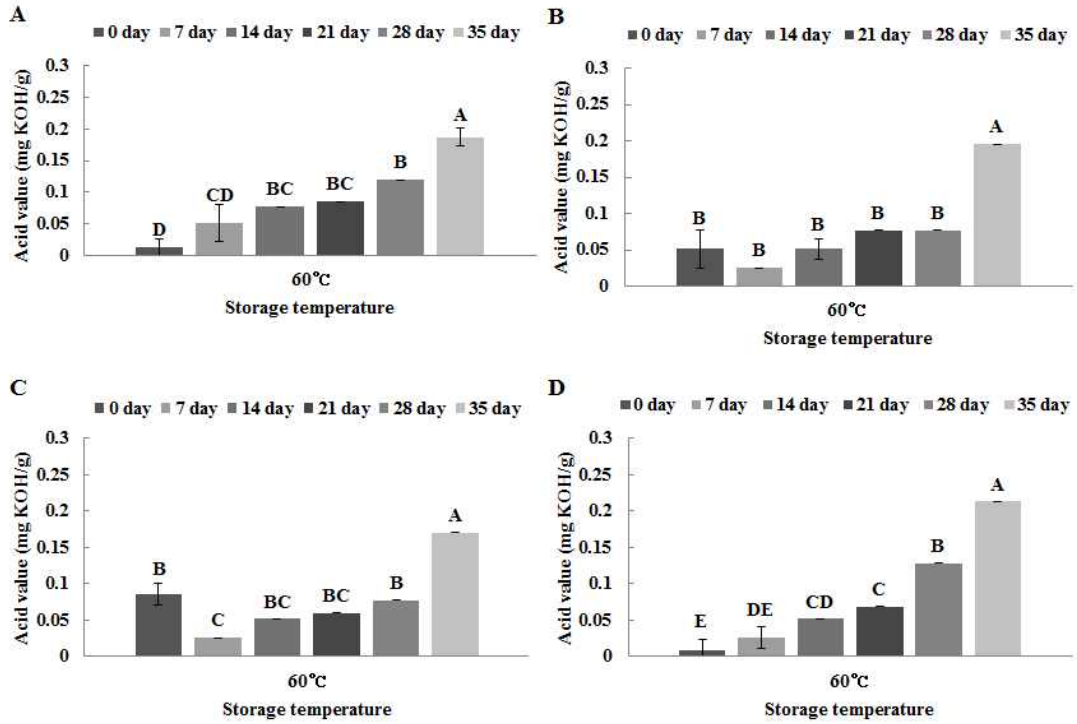


Fig. 3. The acid value change of extracted horse oil depending on concentration of green tea leaves (A: control, B: 1%, C: 5%, D: 10% by horse fat weight) during 35 days at 5, 25, and 60°C. Value with different small letters are significantly different according to storage day of same concentration and temperature, respectively by Tukey's multiple range test ($p < 0.05$).

3.1.3. 과산화물가

과산화물가는 산화 초기의 산패도를 나타내는 지표로 사용되고 있으며, 녹차잎의 첨가농도, 저장온도, 저장기간에 따른 마유의 과산화물가는 Fig. 4에 농도에 따라 각각 나타내었다. 마유의 과산화물가는 저장기간이 길어짐에 따라 대조구와 실험구 모두 증가하는 경향을 보였으며, 산가와 마찬가지로 60°C에서 저장하였을 때 가장 높은 값을 보였다. 그러나 35일 저장 후 대조구의 값이 유의적으로 가장 낮은 39.20 ± 0.33 meq/kg을 나타내면서 녹차잎 첨가에 따른 산패방지효과는 관찰할 수 없었다. 본 연구와 마찬가지로 Wanasundara & Shahidi (1998)의 연구에서도 녹차잎 첨가량이 증가할수록 과산화물가 값이 증가하는 결과를 보였다. 이러한 결과는 녹차잎의 녹색 색소인 클로로필 때문인 것으로 보고했으며, 클로로필이 열에 의해 페오피틴(Pheophytin)으로 분해가 되며, 이로 인해 식품의 색을 변성시키고 산화를 촉진시키기 때문이다(Bae & Kim, 2008).

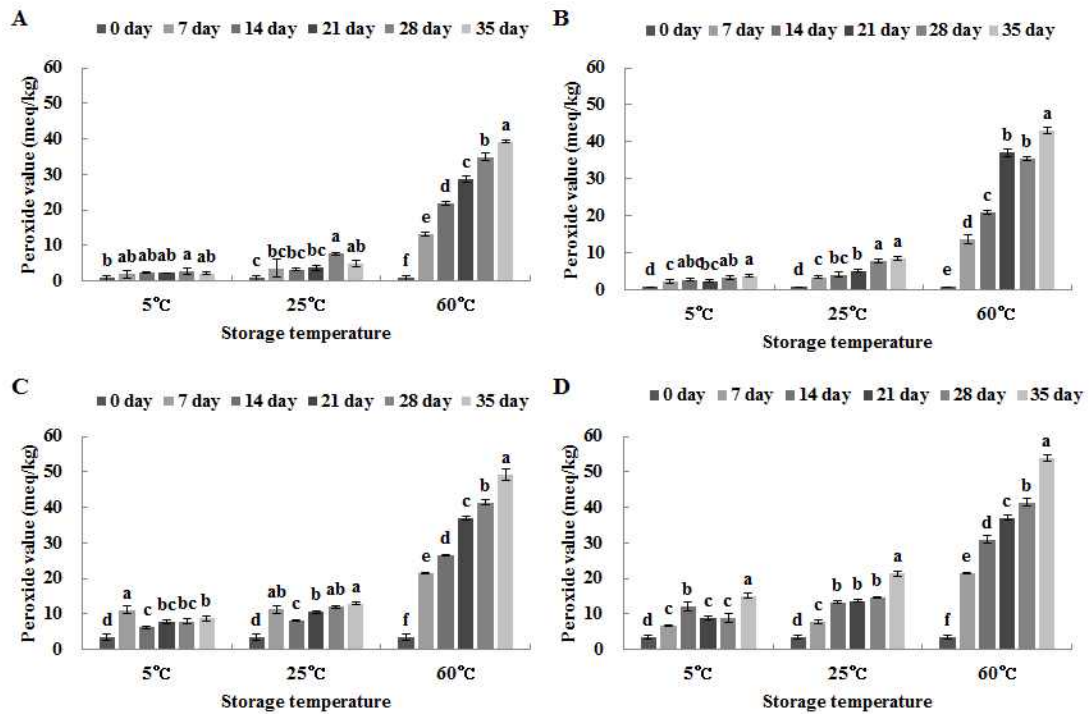


Fig. 4. The peroxide value change of extracted horse oil depending on concentration of green tea leaves (A: control, B: 1%, C: 5%, D: 10% by horse fat weight) during 35 days at 5, 25, and 60°C. Value with different small letters are significantly different according to storage day of same concentration and temperature, respectively by Tukey's multiple range test ($p < 0.05$).

3.1.4. Thiobarbituric Acid (TBA)

TBA값의 증가는 저장시간이 길어질수록 가수분해효소의 활성화에 의한 인지질로부터의 유리지방산이 생성 증가하고 이에 따라 인지질의 함량은 감소, triglyceride의 함량 증가로 인해 값이 증가하게 된다(Kim, 2002). 본 연구에서 관찰한 녹차잎 첨가 농도, 저장 온도, 저장기간에 따른 대조구와 실험구의 TBA값은 Fig. 5에 나타냈다.

저장온도에 따른 변화를 살펴보면, 저장기간동안 5°C에서는 3 이하의 값을 보이며 변화가 거의 없었고, 25°C에서는 모든 샘플의 TBA값이 증가하는 경향이거나 5에서 10 사이의 낮은 값을 보였다. 60°C에서는 저장 직후 7일 동안 급격하게 증가한 후 저장기간동안 증가하다 최고값을 보인 후 감소하는 경향을 보였으며, 60°C에서 저장한 대조구가 최고 TBA값(45.0 ± 1.99)은 실험구보다 높았다. Cha et al. (2001)의 연구에서 TBA값이 저장 초기부터 15일까지 증가하다 감소하는 현상과 유사하며, 이들은 장시간 저장 시 malonaldehyde가 카보닐, 아미노산등과 같은 성분과 쉽게 반응하여 감소하는 것으로 보고하였다.

TBA값의 경우 녹차잎 첨가농도에 따른 영향을 관찰 할 수 있었는데 대조구는 저장 14일 이후부터 감소하는 경향을 보였으며, 1%첨가구와 5%첨가구는 저장 21일 후에 감소하는 경향을 보였고, 10%첨가구는 35일 동안 감소하는 경향을 보이지 않았다. 본 연구와 유사하게 Kang et al. (2007)의 연구에서도 멀치유에 녹차잎의 수용성추출물을 첨가한 실험구가 대조구보다 낮은 TBA값을 보였으며, 이를 통해 녹차잎의 수용성추출물이 지질의 산화를 억제하고 산화 유도기를 연장시킨다고 주장하였다. TBA값에 의하면 녹차잎의 항산화 성분이 malonaldehyde 생성을 지연시켜 마유의 산화를 억제 시키는데 영향을 미친 것으로 판단된다.

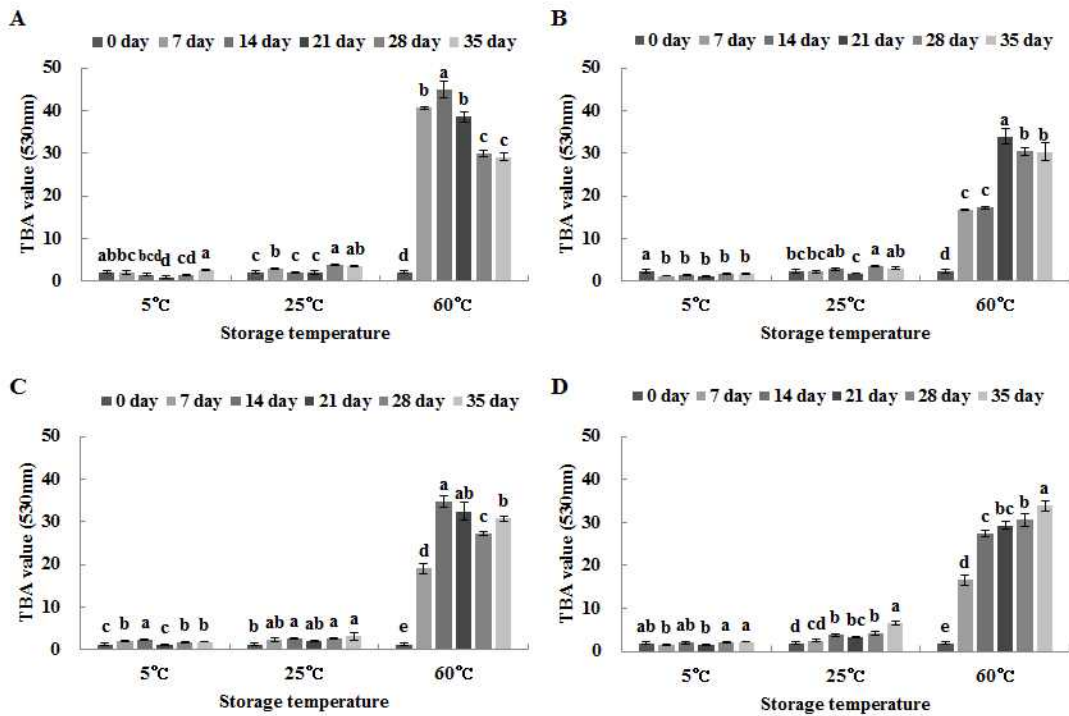


Fig. 5. The TBA value change of extracted horse oil depending on concentration of green tea leaves (A: control, B: 1%, C: 5%, D: 10% by horse fat weight) during 35 days at 5, 25, and 60°C. Value with different small letters are significantly different according to storage day of same concentration and temperature, respectively by Tukey's multiple range test ($p < 0.05$).

3.1.5. 요오드가

요오드가는 유지내의 불포화도를 나타내는 척도이며, 불포화지방산의 탄소간 결합이 할로젠족과 반응하는 것을 이용하여 유지내의 불포화지방산의 농도를 측정하는 방법이다(Lee et al. 2012). 녹차잎 첨가 농도, 저장 온도, 저장기간에 따른 요오드값은 Fig. 6에 나타내었다. 저장기간동안 저장온도 및 녹차잎 첨가농에 따른 큰 차이는 보이지 않았으나, 10%첨가구의 경우 저장기간동안 유의적차이 없이 가장 안정적인 값을 나타냈다($p>0.05$).

일반적으로 많이 사용되는 식용우지와 식용돈지의 경우 식품공전에서의 요오드가 규격이 각각 32-50, 45-70으로 규정되어 있으며(Ministry of Food and Drug Safety, 2017), Chang & Yang. (2001)의 연구에서 우지의 요오드가는 49.6이며 Guillén & Cabo (1998) 연구에서 돈지의 요오드가는 61의 값을 나타냈다. 본 연구에서 관찰한 전체 마유의 최소값과 최대값은 각각 51.87 ± 2.07 , 72.91 ± 4.81 이었으며, 그 중 대조구의 요오드가는 60-69 이고, 실험구 대부분도 평균 60 이상의 값으로 나타났다.

우리나라 식품공전에는 아직 마유에 관한 규격은 아직 없는 실정이다. 본 연구의 결과를 토대로 마유의 요오드가에 대한 규격을 설정해 보면 대략 55-75 일 것으로 판단되며 일반적인 동물성 유지보다 마유의 불포화도가 높음이 확인되었다.

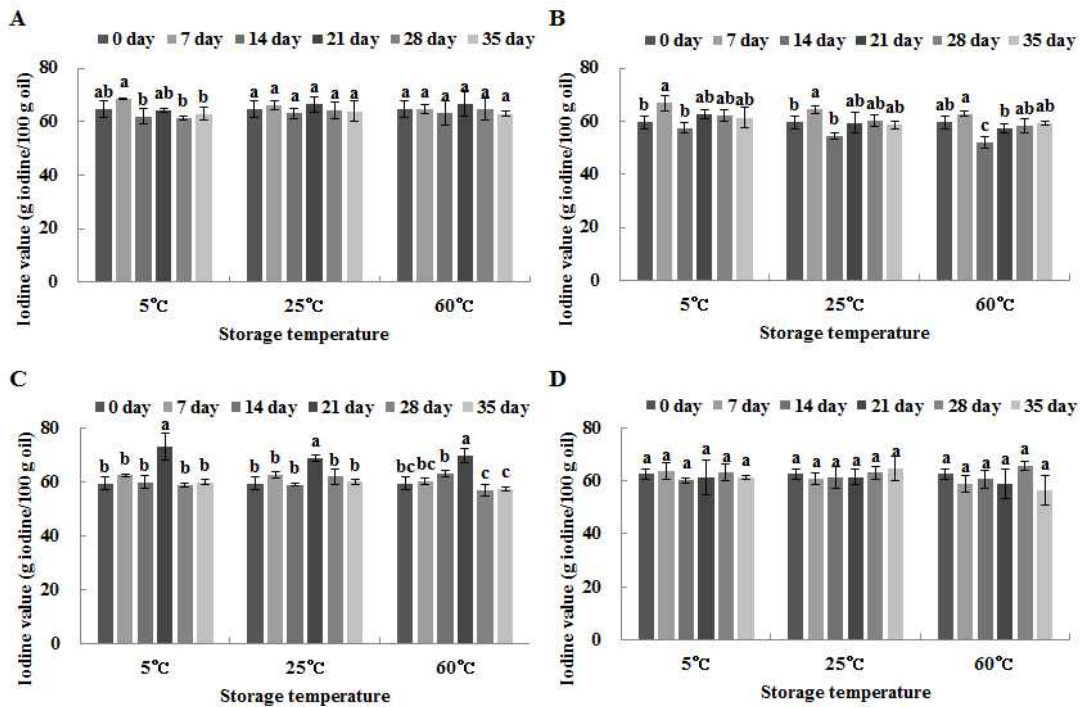


Fig. 6. The iodine value change of extracted horse oil depending on concentration of green tea leaves (A: control, B: 1%, C: 5%, D: 10% by horse fat weight) during 35 days at 5, 25, and 60°C. Value with different small letters are significantly different according to storage day of same concentration and temperature, respectively by Tukey's multiple range test ($p < 0.05$).

3.1.6. 지방산조성

녹차잎 첨가 농도, 저장온도, 저장기간에 따른 초기 지방산 조성과 35일 저장 후의 지방산 조성의 변화(g/100 g)는 Table 1에 나타내었다. 주요 포화지방산으로는 Myristic acid (C14:0), Palmitic acid (C16:0), Stearic acid (C18:0)가 검출되었고 불포화지방산에서는 Palmitoleic acid (C16:1), Oleic acid (C18:1n9c), Linoleic acid (C18:2n6c), Linolenic acid (C18:3n3)가 검출 되었다.

주요 지방산의 변화를 살펴보면 Stearic acid, Oleic acid, Linoleic acid는 녹차잎 첨가농도가 높을수록, 저장종료 후 다소 증가하였으며, Myristic acid와 Palmitic acid는 녹차잎 첨가농도에 대한 영향은 없으나 저장종료 후 다소 증가하였다. 오메가-7 계열의 불포화지방산인 Palmitoleic acid는 사람 피지의 주요성분으로 향균, 항아토피 등의 효과로 피부를 보호하는 것으로 알려져 있다. 또한 돈지 및 우지와 비교했을 때 2-3배 이상의 Palmitoleic acid가 포함되어 있다고 한다(National Institute of Animal Science, 2016). 그러나 본 연구에서는 5% 녹차잎 첨가구에서 Palmitoleic acid이 6.97 g/100 g으로 가장 많이 검출되었으나 다른 주요지방산과 다르게 저장종료 후 다소 감소하는 경향을 보였다. 전반적으로 녹차잎 첨가 농도, 저장온도와 저장기간에 따른 지방산 조성의 큰 변화는 없었으나, 미비하지만 저장기간에 따른 증감이 관찰되었으며, 불포화지방산보다 포화지방산이 증가경향을 보였다.

항산화제를 첨가한 소고기 분쇄육을 냉장보관하여 지방산 조성의 차이를 관찰한 Kim & Lee (2011)의 논문에서도 녹차잎의 항산화 성분 중 하나인 카테킨과 여러 항산화제를 첨가하여 관찰 하였는데, 대조군과 실험군의 지방산 변화는 큰 차이를 보이지 않았지만 대체적으로 포화지방산이 증가하고 불포화지방산이 감소하는 결과를 나타내며, 특히 카테킨을 첨가하였을 때 포화지방산의 조성 변화가 가장 적게 나타났다는 결론을 내렸다. Cho et al. (2007)에 의하면, 다가불포화지방산의 함량이 높을수록 산화가능성이 높으며 oleic acid 및 linoleic acid의 산화에 의해 불포화지방산의 함량이 감소한다고 주장하였다. 하지만 본 논문의 경우 35일 저장 후의 1% 첨가구는 산패가 진행되었으나 불포화지방산 함량이 증가하는 경향을 보여 향후 마유 지방산 조성의 변화와 지방산패 진행의 상호관계에 대한 다각적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

Table 1-1. Analysis of fatty acid composition of horse oils extracted with adding various concentration of green tea leaves at 5°C storage temperature

Fatty acid	0%		1%		5%		10%	
	0 day	35 day	0 day	35 day	0 day	35 day	0 day	35 day
Saturated fatty acid								
C10:0	0.067	0.088	0.069	0.093	0.074	0.093	0.072	0.09
C12:0	0.471	0.505	0.438	0.481	0.446	0.474	0.45	0.472
C14:0	4.7	4.76	4.89	4.93	4.83	4.92	4.59	4.67
C15:0	0.27	0.283	0.294	0.308	0.295	0.311	0.266	0.278
C16:0	30.7	30.7	31.8	31.5	31.5	31.7	30.8	31.0
C17:0	0.596	0.362	0.633	0.382	0.652	0.381	0.621	0.37
C18:0	4.72	4.75	4.92	4.87	4.78	4.86	5.21	5.32
C20:0	0.059	0.059	0.058	0.06	0.057	0.059	0.06	0.063
C23:0	-	-	-	-	-	-	-	-
Unsaturated fatty acid								
C14:1	0.315	0.33	0.327	0.353	0.338	0.356	0.305	0.316
C16:1	6.57	6.24	6.84	6.58	6.97	6.64	6.45	6.11
C18:1n9t	0.13	0.102	0.122	0.11	0.13	0.117	0.132	0.115
C18:1n9c	32.2	32.5	32.3	32.8	32.4	32.8	32.8	33.0
C18:2n6c	10.1	9.99	8.69	8.89	8.88	8.79	9.21	9.08
C20:1	0.498	0.513	0.493	0.512	0.51	0.513	0.521	0.523
C18:3n3	3.2	3.35	2.69	2.85	2.71	2.81	3.08	3.18
C18:3n6	-	-	-	-	-	-	-	-
C20:2	0.222	0.238	0.197	0.215	0.199	0.215	0.209	0.223
C20:3n3	0.11	0.12	0.098	0.108	0.098	0.107	0.111	0.121
C20:4n6	-	-	-	-	0.021	-	0.022	-
C22:1n9	-	-	-	-	0.022	-	0.022	-
∑SFA	41.583	41.507	43.102	42.624	42.634	42.798	42.069	42.263
∑USFA	53.345	53.383	51.757	52.418	52.278	52.348	52.862	52.668

Table 1-2. Analysis of fatty acid composition of horse oils extracted with adding various concentration of green tea leaves at 25°C storage temperature

Fatty acid	0%		1%		5%		10%	
	0 day	35 day	0 day	35 day	0 day	35 day	0 day	35 day
Saturated fatty acid								
C10:0	0.067	0.086	0.069	0.094	0.074	0.094	0.072	0.087
C12:0	0.471	0.507	0.438	0.479	0.446	0.476	0.45	0.465
C14:0	4.7	4.77	4.89	4.93	4.83	4.93	4.59	4.69
C15:0	0.27	0.285	0.294	0.308	0.295	0.31	0.266	0.28
C16:0	30.7	30.8	31.8	31.5	31.5	31.7	30.8	31.2
C17:0	0.596	0.362	0.633	0.381	0.652	0.381	0.621	0.402
C18:0	4.72	4.76	4.92	4.87	4.78	4.86	5.21	5.32
C20:0	0.059	0.06	0.058	0.06	0.057	0.059	0.06	0.062
C23:0	-	-	-	-	-	-	-	0.028
Unsaturated fatty acid								
C14:1	0.315	0.332	0.327	0.354	0.338	0.356	0.305	0.314
C16:1	6.57	6.27	6.84	6.58	6.97	6.64	6.45	6.11
C18:1n9t	0.13	0.103	0.122	0.118	0.13	0.11	0.132	0.133
C18:1n9c	32.2	32.5	32.3	32.7	32.4	32.7	32.8	32.9
C18:2n6c	10.1	9.99	8.69	8.85	8.88	8.77	9.21	9.0
C20:1	0.498	0.515	0.493	0.511	0.51	0.512	0.521	0.519
C18:3n3	3.2	3.35	2.69	2.83	2.71	2.8	3.08	3.15
C18:3n6	-	-	-	-	-	-	-	0.027
C20:2	0.222	0.239	0.197	0.214	0.199	0.214	0.209	0.217
C20:3n3	0.11	0.12	0.098	0.108	0.098	0.108	0.111	0.119
C20:4n6	-	-	-	-	0.021	-	0.022	-
C22:1n9	-	-	-	-	0.022	-	0.022	0.028
∑SFA	41.583	41.63	43.102	42.622	42.634	42.81	42.069	42.534
∑USFA	53.345	53.419	51.757	52.265	52.278	52.21	52.862	52.517

Table 1-3. Analysis of fatty acid composition of horse oils extracted with adding various concentration of green tea leaves at 60°C storage temperatures

Fatty acid	0%		1%		5%		10%	
	0 day	35 day	0 day	35 day	0 day	35 day	0 day	35 day
Saturated fatty acid								
C10:0	0.067	0.088	0.069	0.095	0.074	0.097	0.072	0.091
C12:0	0.471	0.512	0.438	0.484	0.446	0.48	0.45	0.478
C14:0	4.7	4.81	4.89	4.96	4.83	4.93	4.59	4.71
C15:0	0.27	0.287	0.294	0.31	0.295	0.311	0.266	0.281
C16:0	30.7	31.0	31.8	31.8	31.5	31.8	30.8	31.3
C17:0	0.596	0.364	0.633	0.385	0.652	0.386	0.621	0.369
C18:0	4.72	4.8	4.92	4.92	4.78	4.9	5.21	5.37
C20:0	0.059	0.06	0.058	0.061	0.057	-	0.06	0.063
C23:0	-	-	-	-	-	-	-	-
Unsaturated fatty acid								
C14:1	0.315	0.332	0.327	0.354	0.338	0.355	0.305	0.316
C16:1	6.57	6.28	6.84	6.59	6.97	6.62	6.45	6.13
C18:1n9t	0.13	0.119	0.122	0.112	0.13	0.095	0.132	0.117
C18:1n9c	32.2	32.6	32.3	32.9	32.4	32.9	32.8	33.2
C18:2n6c	10.1	9.67	8.69	8.57	8.88	8.48	9.21	8.81
C20:1	0.498	0.516	0.493	0.515	0.51	0.563	0.521	0.527
C18:3n3	3.2	3.12	2.69	2.64	2.71	2.6	3.08	2.97
C18:3n6	-	-	-	-	-	-	-	-
C20:2	0.222	0.231	0.197	0.208	0.199	0.205	0.209	0.218
C20:3n3	0.11	0.112	0.098	0.1	0.098	0.099	0.111	0.114
C20:4n6	-	-	-	-	0.021	-	0.022	-
C22:1n9	-	-	-	-	0.022	-	0.022	-
∑SFA	41.583	41.921	43.102	43.015	42.634	42.904	42.069	42.662
∑USFA	53.345	52.98	51.757	51.989	52.278	51.917	52.862	52.402

3.1.7. 가속화 실험에 의한 마유의 유통기한 설정

유통기한은 제품의 안전과 품질이 저하되어 판매할 수 없게 되기까지의 기간으로, 즉 제품의 제조일로부터 소비자에게 판매가 가능한 기간을 뜻한다 (Ministry of Food and Drug Safety, 2016). 일반적으로 유통기한은 식품의 화학적, 미생물적, 관능적인 변화를 각각의 저장온도에서의 저장기간에 따른 변화를 측정하여 변화율을 비교하여 해당 식품의 규격을 한계기준치로 설정하여 유통기한을 산출한다(Park et al, 2013). 현재 마유의 유통기한과 유통기한 설정을 위한 품질지표에 대한 규격은 규정된 바가 없어, 동물성 유지의 산패 기준인 20-40 meq/kg (Hwang et al, 2016)의 과산화물가 범위 중 가장 낮은 수치인 20 meq/kg 이하를 기준으로 녹차잎을 첨가하지 않은 대조구의 과산화물가 결과를 품질지표로 설정하여 예측하였다. 탈검, 탈산 및 수세 과정을 거친 마유의 유통기한 예측 결과(Table 2), 250.17일(8.22개월)이 산출 되었으며 이에 안전계수 0.8을 곱하여 200.14일(6.58개월)로 산출 되어 약 6개월의 유통기한이 설정되었다.

Table 2. Prediction of shelf life of horse oil

First content - Quality standards	Annual change rate constant	Shelf life (day)	Shelf life (month)
-19.11	27.88	250.17	8.22

3.2. 결정화법을 이용한 마유의 불포화지방산과 포화지방산 분리

3.2.1. 냉각곡선과 운점(Cloud point)

운점은 유지의 결정핵을 모두 소거시킨 후 냉각 시켜 결정화가 시작되는 시점을 측정하는 방법으로 각각의 지방산들은 고유의 녹는점을 가지고 있으며 일반적으로 포화지방산의 녹는점은 불포화지방산에 비해 높다. 이러한 차이로 인해 결정화가 시작되는 온도가 각각 달라져 유지에 구성되어 있는 전체적인 지방산 조성을 알 수 있다. 본 연구에서는 분리 전 마유와 결정화법에 의해 고체상과 액체상으로 분리된 마유의 냉각곡선과 운점(Fig. 7)을 측정하여 분리 전 후의 변화를 알아보았다.

냉각곡선에서는 분리 전 후에 따른 지방산조성 변화에 상관없이 유사한 결과를 보여 운점 측정시에 냉각속도 차이에 의한 오차는 없을 것으로 사료된다. 분리 전 운점은 25.6°C, 분리 후의 액체상과 고체상은 각각 7.6°C, 29.4°C의 결과를 나타내었다. 분리 전을 기준으로 분리 후 포화지방산은 운점이 높아지고 불포화지방산은 낮아지는 것을 확인하였다. 이러한 결정화 분리 전 후 운점의 변화로 인해 마유의 포화지방산과 불포화지방산이 분리될 수 있음을 확인 할 수 있었으며, 이와 같이 온도를 이용하여 지방산을 분리한다면 palmitoleic acid등과 같은 마유의 유익한 불포화지방산의 순도를 높일 수 있을 것으로 생각된다.

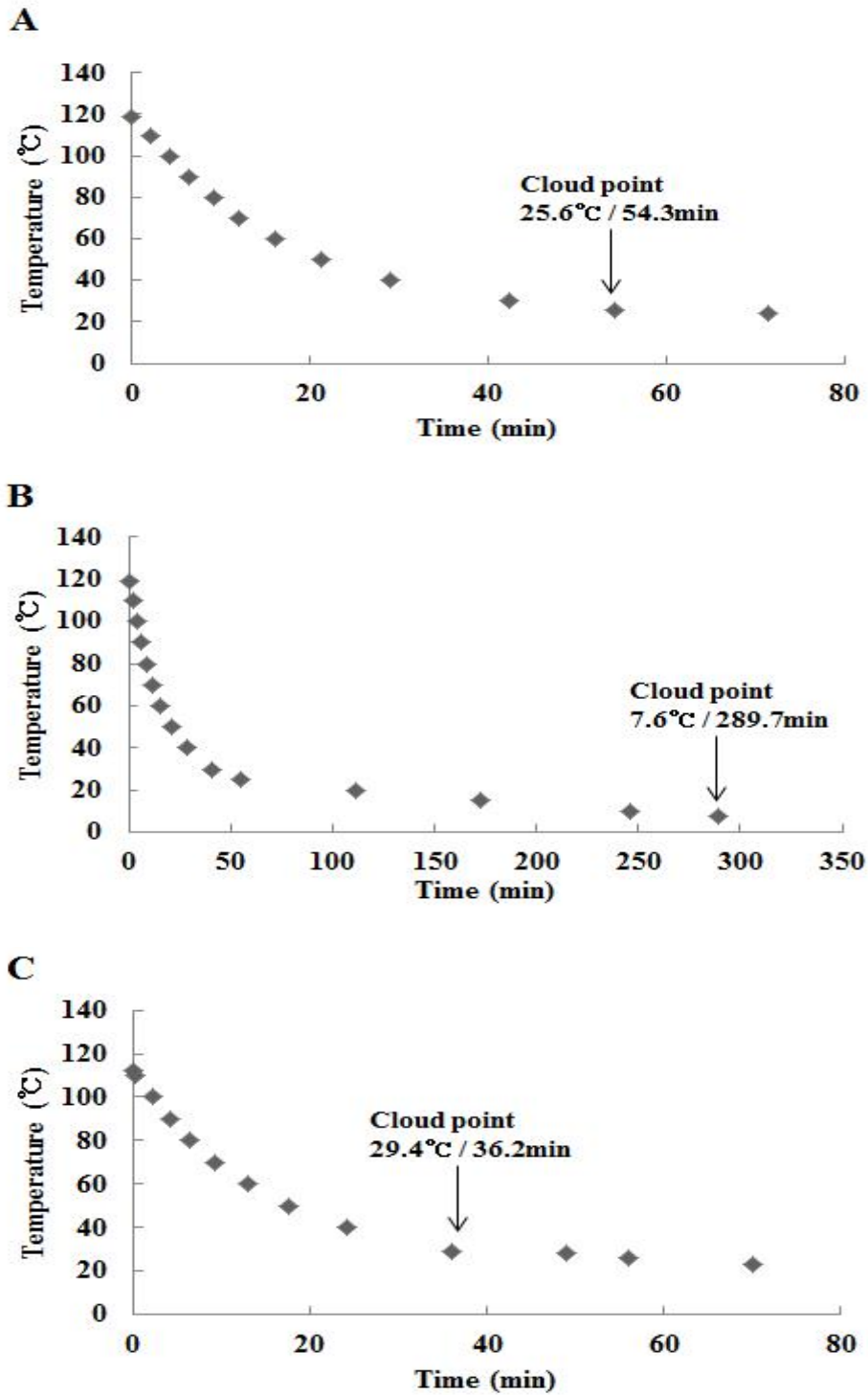


Fig. 7. Cooling curve and cloud point of horse oil (A) before separation and (B) liquid phase and (C) solid phase of horse oil after separation by low-temperature crystallization.

3.2.2. 요오드가

결정화 분리에 따른 불포화도의 변화를 비교하기 위해 결정화 분리 전과 분리 후의 액체상과 고체상의 요오드가를 각각 측정하여 Fig. 8에 나타내었다.

요오드가에서는 분리된 액체상의 마유는 72.19 ± 1.14 의 값으로 가장 높은 요오드값을 나타냈으며($p < 0.05$), 분리 후 고체상의 마유가 59.33 ± 0.91 의 값으로 가장 낮은 요오드값을 나타내었으며($p < 0.05$), 분리 전 마유의 경우 68.41 ± 1.58 의 값을 나타내었다. 본 연구에서는 불포화지방산 중 가장 많이 함유되어 있고 상대적으로 높은 녹는점을 가진 oleic acid를 분리하기 위해 15°C 에서 결정화 분리를 하였다. 분리 전과 후의 액체상과 고체상의 요오드값이 유의적으로 차이를 보여 분리가 되었음을 확인 할 수 있었으나, 보다 높은 순도를 위해서는 반복 횟수를 늘리거나 더 낮은 온도에서 분리를 하는 것이 필요할 것으로 생각된다. Kim et al (2016)의 연구에서는 고등어 부산물을 정제한 후 -70°C 에서 냉침하여 기능성 불포화지방산인 docosahexaenoic acid (DHA)와 eicosapentaenoic acid (EPA)의 순도를 높인 사례가 있는데, 마유 또한 Palmitoleic acid와 필수 지방산인 Linolenic acid등과 같은 인체에 유익한 지방산들을 함유하고 있어 그에 알맞은 온도를 설정하여 결정화 분리를 한다면 순도 높은 불포화지방산을 수득할 수 있을 것으로 사료된다.

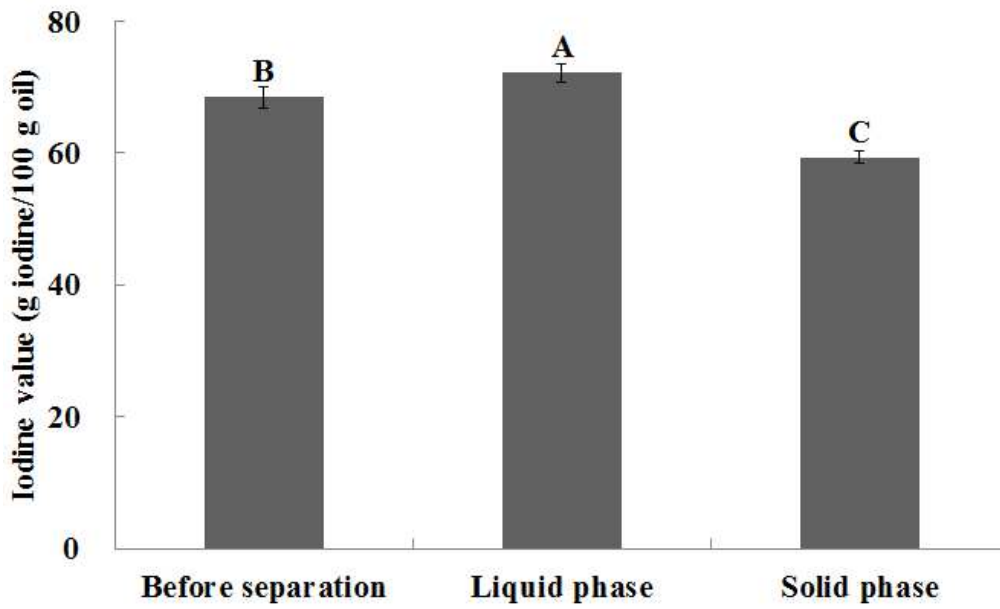


Fig. 8. Iodine value of extracted horse oil before and after separation by low-temperature crystallization. Value with different capital letters are significantly different according to crystallization separation of same concentration, respectively by Tukey's multiple range test ($p < 0.05$).

3.2.3. 시차주사열량법(DSC)에 의한 열분석

결정화법에 의해 분리된 마유의 DSC에 의한 열분석 그래프는 Fig. 9에 나타내었다. Fig. 9(A)의 대조구의 분리 전 냉각 열분석 결과 발열피크가 2개가 나타났으며, 각각 14.59°C, -0.11°C의 온도에서 관찰되었다. 대조구의 분리 후 액체상의 냉각 열분석 결과에서는 -2.11°C에서만 하나의 발열피크가 나타났으며, 고체상의 경우 21.95°C, 2.55°C로 두 개의 발열피크가 나타났다. 이들 중 결정화 온도는 -2.11°C로 분리 후 액체상의 마유가 가장 낮았으며, 분리 전과 분리 후 고체상의 마유순으로 낮은 결정화 온도를 나타냈다. 이에 따라 분리 후 액체상, 분리 전, 분리 후 고체상의 순서로 각각 -0.58°C, 2.33°C, 25.03°C의 값으로 분리 후 액체상의 결정화 시작 온도가 가장 낮고 분리 후 고체상의 결정화 시작 온도가 가장 높은 결과를 보였다. 결정화를 위한 열량은 이와는 반대로 24.82 J/g으로 분리 후 액체상이 가장 낮은 에너지를 필요로 했으며, 분리 후 고체상의 경우 55.39 J/g으로 가장 높은 에너지를 필요로 했다.

Fig. 9(B)의 0% 첨가 마유의 가열 열분석에서는 분리 전과 분리 후 고체상의 결과에서는 3개의 흡열피크가 나타났으며, 분리 후 액체상의 경우 2개의 흡열피크가 관찰되었다. 분리 전과 분리 후 고체상의 경우 분리 후 액체상의 흡열피크와 유사한 범위온도의 2개의 피크와 더 높은 온도에서의 피크를 추가적으로 1개씩 더 나타냈는데 액체상의 흡열피크와 유사한 2개의 피크는 분리 도중 고체상의 결정구조에 상대적으로 녹는점이 더 낮은 액체상의 지방산이 가두어져 유사한 피크가 나타난 것으로 사료된다(Zaliha O., 2004). 분리 전, 분리 후 액체상, 분리 후 고체상의 공통점인 부분을 제외하면 분리 전 마유의 녹는점은 21.80°C이며, 분리 후 고체상의 녹는점은 39.54°C로 가장 높은 온도를 나타내었다. 녹기 위해 필요한 총 에너지의 양은 분리 후 고체상의 마유가 95.10 J/g로 가장 높은 값을 보였으며, 분리 전과 분리 후 액체상의 필요 에너지는 각각 55.99 J/g, 59.35 J/g으로 분리 후 액체상의 필요 에너지 양이 조금 더 큰 값을 나타내었다. 결정화 분리 후 액체상의 마유는 낮은 결정화 온도와 녹는점을 나타내었고, 이와는 반대로 분리 후 고체상의 마유는 높은 결정화온도와 녹는점을 나타내었다.

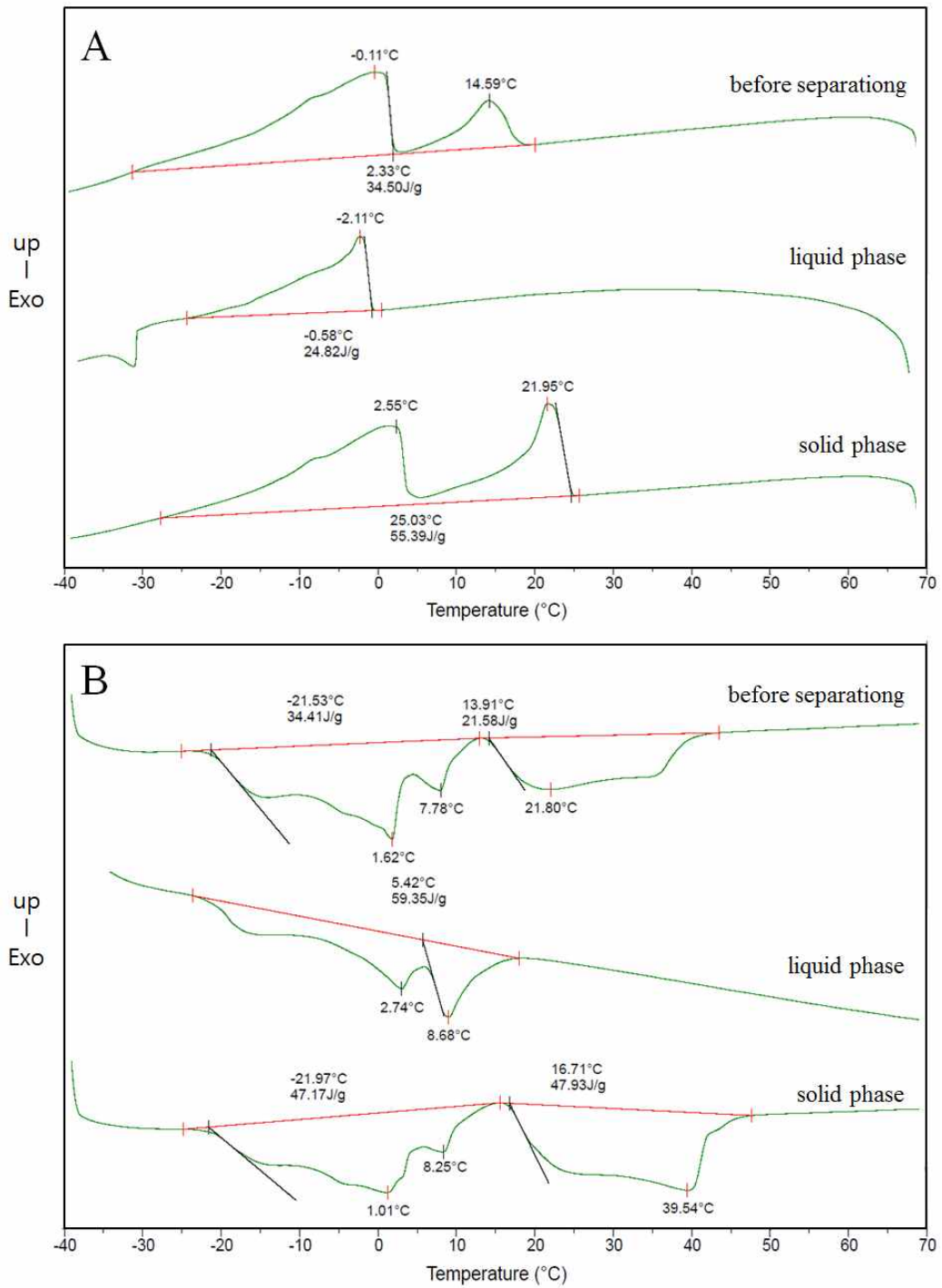


Fig. 9. Thermal properties of extracted horse oil before and after crystallization separation by low-temperature crystallization (A: cooling thermograms, B: melting thermograms)

4. 결 론

마유의 이취를 감소시키고 저장성을 높이기 위해 천연항산화제인 녹차잎을 첨가한 결과, 마유에 대한 녹차잎의 항산화 효과는 과산화물가의 경우 녹차의 클로로필로 인해 산화가 촉진되는 결과를 가져와 생각보다 크지 않았지만 마유 추출공정에 탈색공정을 추가한다면 보완이 될 것이라 생각한다. 과산화물가를 제외한 산패도 실험에서는 항산화력을 보이거나 대조구와 비슷한 결과를 보였으며 탈검, 탈색공정 외에 탈색공정을 추가한다면 보다 나은 녹차첨가 마유를 제조할 수 있을 것으로 생각된다. 유통기한의 경우, 이화학적, 미생물학적인 여러 품질지표를 활용하여 산출해야 하지만, 본 연구에서는 전국 월평균 기온(2014년-2016년)에서의 유통온도로 마유의 저장일에 따른 과산화물가의 변화 값만을 지표로 유통기한을 산출하였고 그 결과 약 6개월의 유통기한을 산출 할 수 있었다.

15°C에서의 마유의 결정화분리에서는, 분리 전을 기준으로 분리 후의 고체상과 액체상은 서로 반대되는 결과를 보여 분리가 되었음을 확인할 수 있었으며, 이로 인해 마유에서 포화지방산을 분리하여 유익한 불포화지방산의 순도를 높일 수 있을 것으로 생각된다. 더욱더 높은 순도의 분리를 위해선 15°C 이외의 여러 가지 온도에서 결정화 분리하는 연구가 선행되어야 할 것이다.

본 연구를 통해 마유의 이화학적 및 지방산조성 특성에 대해 관찰하였다. 향후 이취개선검증 및 포화지방산 분리 후 마유의 지방산패 안정성 검증 실험이 보완된다면, 식품 및 화장품 제조시 필요한 유용한 결과라 판단된다.

국문 요약

본 연구에서는 마유의 이취를 줄이고 저장성을 향상시키기 위해 녹차잎을 첨가하여 마유를 추출하고 녹차잎 0, 1, 5, 10% (w/w)의 농도, 저장온도(5°C, 25°C, 60°C), 35일의 저장기간에 따른 마유의 pH, 산가, 과산화물가, TBA, 요오드화가와 지방산조성을 측정 및 분석하여 이화학적 특성을 관찰하고 결정화분리법을 이용하여 마유의 불포화지방산과 포화지방산을 분리 하고자 15°C에서 결정화분리를 하여 고체상과 액체상을 분리하여 냉각곡선, 운점(Cloud point), 요오드화가, 시차주사열량분석(DSC)에 의한 열분석을 측정 및 분석하여 결정화 분리 전과 후의 마유의 특성변화를 관찰하였다.

이화학 특성에서 pH의 경우 대조구와 실험구 모두 60°C에서 저장시 급격히 감소하는 경향을 보였으며, 산가에서는 10% 실험구를 35일간 60°C에서 저장시 약 0.21의 값으로 가장 높은 값을 나타내었고 5°C와 25°C의 대조구와 실험구는 모두 0.05이하의 안정적인 값을 나타내었다. 과산화물가의 경우 녹차의 클로로필로 인해 녹차잎 첨가 농도가 증가할수록 과산화물가가 증가하는 경향을 보였다. TBA에서는 5°C와 25°C 저장 시 큰 변화를 보이지 않았으며, 60°C 저장 시 10% 실험구를 제외한 모든 대조구와 실험구가 증가하다 감소하는 경향을 보였으며, 대조구에서 가장 높은 값을 나타내었다. 요오드가에서는 대조구와 실험구 모두 60 전후의 값들을 보였으며 증가하거나 감소하는 경향을 보이지 않았다. 지방산 조성에서는 35일 저장 후 대부분 포화지방산의 조성비가 감소하는 경향을 보였으며, 불포화지방산의 경우 감소하거나 증가하는 경향을 보였으나 큰 폭으로 감소 및 증가하는 변화는 보이지 않았다. 유통기한산출프로그램을 이용하여 본 연구의 과산화물가 결과값을 품질 지표로 산출한 결과 약 6개월의 유통기한이 산출되었다.

결정화분리 전과 후의 마유의 특성변화에서는, 냉각곡선의 경우 결정화 분리 전과 후에 상관없이 유사한 냉각곡선을 나타내었다. 운점에서는 분리 전의 마유를 기준으로 분리 후 액체상의 경우 운점이 낮아지고, 고체상의 경우 높아지는 것을 확인할 수 있었다. 요오드가에서는 결정화 분리 후의 액체상이 가장 높은

값을 나타내었다. 시차주사열량법(DSC)에 의한 열분석에서는 결정화 분리 전의 마유를 기준으로 분리 후 액체상은 낮은 온도의 발열 및 흡열 피크가 나타났고 고체상의 경우 높은 온도의 발열 및 흡열 피크가 나타났는데, 이는 고체상의 결정구조에 액체상의 지방산이 가두어져 생긴 피크로 사료된다.

REFERENCES

- Ahn HS, Oh SE. 2013. The effect of applying various amounts of ceramide skincare on erythema and moisturizing after herbal peeling. *Kor. J. Aesthet. Cosmetol.* 11:305-314
- AOCS. 1990. Official and tentative methods of American Oil Chemist's Society (15th ed.). Champaign
- Bae EK, Kim GH. 2008. Encapsulation of Avocado Oil Using Spray Drying. *KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL.* 40:303-310
- Cha YJ, Park SY, Kim H, Jeong EJ, Chung YJ, Kim JS. 2001. Oxidative Stability of Seasoned-Dried Pacific Saury (Imported Product) Treated with Liquid Smoke. *J. Food Sci. Nutr.* 6:201-205
- Chang YS, Yang JH. 2001. Oxidative Stability of Tallow Heated by Different Frying Conditions. *KOREAN J. POSTHARVEST SCI. TECHNOL.* 8:331-337
- Cho HS, Shin JH, Lee SJ, Kang MJ, Cho HS, Sung NJ. 2007. Lipid Compositions Changes of Seasoned Pork Prepared with Medicinal Plant Extracts During Storage. *Journal of Life Science.* 17:1675-1681
- Choi KH, Lee YS, Yoon JH, Yoo WK, Kim MR, Lee KS, Cho JW. 2014. Effect of horse oil on anti-bacterial, inflammatory cytokines, and type I collagen expressions in human HaCaT keratinocytes and fibroblasts. *Ann. Dermatol.* 52:1-6
- Deffense, E. 2000. Dry fractionation technology in 2000. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 102:234-236
- Fontell, K., Holman, R. T., Lamberts, G. 1960. Some new methods for separation and analysis of fatty acids and other lipids. *Journal of Lipid*

Research. 1:391-404

Guillén, M. D., Cabo, N. 1998. Relationships between the composition of edible oils and lard and the ratio of the absorbance of specific bands of their Fourier transform infrared spectra. Role of some bands of the fingerprint region. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46:1788-1793

Han MK. 2003. Study on Health Benefits in Human Body of Food with Functional Ingredients. *Korean J. Food & Nutr.* 16:224-231

Hwang KE, Kim HK, Song DH, Kim CJ, Jeon KH, Kim YB, Choi YS. 2016. Effects of Mechanical Processing and Ganghwa Mugwort on Stability of Chicken Neobiahni during Storage. *Korean J Food Cook Sci.* 32:261-269

Jeong BY, Ryu SN, Hur HS. 1997. Isolation of Pure α - Linolenic Acid from Perilla Seed Oil. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 26:1028-1032

Jeong SM, Kim SY, Park HR, Lee SC. 2004. Effect of Far-Infrared Radiation on the Antioxidant Activity of Extracts from Citrus unshiu Peels. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 33:1580-1583

Kang ST, Yoo UH, Nam KH, Kang JY, Oh KS. 2007. Antioxidative Effects of Green Tea Extract on the Oxidation of Anchovy Oil. *J. of Agriculture & Life Science.* 41:47-53

Kim BS, Lee YE. 2011. Effect of Antioxidant on Quality of Ground Beef during the Refrigeration Storage. *Korean J. Food & Nutr.* 24:422-433

Kim HJ. 2015. A variation of the moisture and oil persistency in moisture cream and horse oil cream. MS thesis, Konkuk Univ., Seoul, Korea

Kim JK, Kim YH, Oh JC, Yu HH. 2013. Optimization of White Pan Bread Preparation by Addition of Black Barley Flour and Olive Oil using Response Surface Methodology. *KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL.* 45:180-190

Kim SH, Shin JY, Kim HJ, Kim JH, Yang JY. 2016. Purification and Characterization of Fish Oil Obtained from Hydrolysates of Mackerel (*Scomber japonicus*) By-products. Journal of Life Science. 26:1049-1055

Kim YT. 2002. A Effect on the Maintenance of Chicken Freshness through π -Water Treatment. J. CULINARY RESEARCH. 8:197-206

Knothe, G., Dunn, R. O. (2009). A comprehensive evaluation of the melting points of fatty acids and esters determined by differential scanning calorimetry. J Am Oil Chem Soc. 86:843-856

Kwon HJ, Park CS. 2008. Biological Activities of Extracts from Omija(*Schizandra chinensis* Baillon). Korean J. Food Preserv. 15:587-592

Lee HH, Gang GL, Cho BS, Ha DR, Kim ES. 2006. A Survey on the Safety of the Imported Foods in Gwangju. J. Fd Hyg. Safety. 21:129-135

Lee KH, Cho HS, Lee JH, Shim KH, Ha YL. 1997. Lipid Oxidation in Roasted Fish Meat 1. Rancidity in Roasted and/or Reheated Dark Muscled Fish. J. Korean Fish. Soc. 30:708-713

Lee S, Kang SH, Kim MK, Song SR, Yoon HJ, Lee MW, Kang HJ, Hwang IK. 2012. Degree of Rancidity and Sensory Characteristics of Frying Oils with Reuse and Storage at Home. KOREAN J. FOOD COOKERY SCI. 28:265-273

Lee SU. 2016. The Change of Catechin and Theanine Content in Green Tea during Different Storage Conditions. Culinary Science & Hospitality Research. 22:267-276

¹⁾Lee TS, Lee YH, Kim KS, Kim W, Kim KS, Jang YS, Park KG. 2012. Yield and Characterization of Various Biodiesel from Vegetable Oils and Animal Fats. New & Renewable Energy. 8:30-37

²⁾Lee TS, Lee YH, Kim KS, Kim W, Kim KS, Jang YS, Park KG. 2012. Characteristics of Fatty Acid Composition and Properties by Blending of Vegetable Oils. Korean J. Plant Res. 25:624-632

Lee YK, LEE HS. 1990. Effects of Onion and Ginger on the Lipid Peroxidation and Fatty Acid Composition of Mackerel during Frozen Storage. J. Korean Soc. Food Nutr. 19:321-329

Lee YS, Yoon JH, Kim BA, Park CI, Yoo WK, Cho JW, Kim MR. 2013. Effects of horse oil on the DNCB-induced contact hypersensitivity in Balb/c mice. Kor. J. Herbology. 28:77-81

Ministry of Food and Drug Safety. 2016. Experiment guidelines for setting the shelf life of food and livestock products. jinhan M&B. Seoul. Korea

Ministry of Food and Drug Safety. 2017. Food Code. Ministry of Food and Drug Safety. Cheongju. Korea. p.99

Ministry of Food and Drug Safety. 2018. General Testing Methods. Ministry of Food and Drug Safety. Cheongju. Korea. p.60-68

National Institute of Animal Science. 2016. Development of functional foods and cosmetics using equine by-products and establishment of nutrient levels and fattening period for improving meat quality of Jeusan-horses. Available from: <http://www.ndsl.kr/ndsl/search/detail/report/reportSearchResultDetail.do?cn=TRKO201600003188>. Accessed December 1, 2017.

Park BH, Choi HK, Cho HS. 2001. Antioxidant effect of aqueous green tea on soybean oil. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 30:552-556

Park JM, Yoo JA, Kang HJ, Eom HJ, Kim SH, Song G, Yoo HS. 2013. Quality Characteristics and Determining the Shelf Life of Red Papper Yukwa. Korean J. Food & Nutr. 4:655-662

Ryu IH, Kwon TO. 2012. The antioxidative effect and ingredients of oil extracted from Schizandra chinensis seed. Korean J. Medicinal Crop Sci. 20:63-71.

Rhi JW, Shin HS. 1993. Antioxidant Effect of Aqueous Extract Obtained from Green Tea. KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL. 25:759-763

Shin DH. 1997. Trends and directions of natural antioxidants. Food Science and Industry. 30:14-21

Wanasundara, U.N., Shahidi, F. 1998. Antioxidant and pro-oxidant activity of green tea extracts in marine oils. Food Chemistry. 3:335-342

Yang HE, Jeong GT, Park SH, Park JH, Park DH. 2007. Reaction condition for biodiesel production from animal fats. Korea J. Biotechnol. 22:228-233.

Zaliha, O., Chong, C.L., Cheow, C.S., Norizzah, A.R., Kellens, M.J. 2004. Crystallization properties of palm oil by dry fractionation. Food Chemistry. 86:245-250

감사의 글

놀이 바빴던 대학교를 졸업하기 전 많이 부족하다고 생각되어 급하게 대학원에 입학하였습니다. 주위에서 우려했듯이 사고도 치고 대학원 생활에 적응하기가 어려웠습니다. 좋고 나쁜 여러 일들을 겪으며 차츰 적응을 해나갔습니다. 꾸중도 많이 들었지만 이러한 관심의 힘으로 학위 논문까지 쓰게 된 것 같습니다.

우선 많이 부족한 저를 받아주시고 많은 가르침을 주신 천지연 교수님께 진심으로 감사함을 느낍니다. 저 때문에 마음고생도 많이 하셨을 것 같아서 정말 죄송하고 감사합니다. 그리고 많이 바쁘신 와중에 논문을 봐주시고 심사해주신 임상빈 교수님과 김현정 교수님께도 진심으로 감사드립니다. 그리고 학부생 때부터 많은 가르침을 주신 고영환 교수님과 박은진 교수님께도 감사드립니다.

대학원 동기인 주희와 현수에게도 고생했다는 말을 전하고 싶고 저를 포함한 저희 대학원생들을 위해 관심을 가져주시고 든든한 지원군이셨던 조만재 조교선생님, 강유리 조교선생님과 재희한테도 많이 감사합니다. 어려운 문제가 생길 때마다 도와준 동신이형, 항상 유쾌하게 응원해주었던 효진이 누나, 미옥이 누나에게도 감사드립니다. 그리고 실험실에 적응할 수 있게 배려해주고 많은 조언을 해주었던 호빈이형, 영원한 저의 파트너 효석이, 많은 도움과 웃음이 넘치게 생활 할 수 있게 해주었던 트리오 지은, 하정, 지원이, 맨날 괴롭혀도 형이라고 해주는 은성이, 묵묵히 또는 유쾌하게 도움을 주는 하영이에게도 감사의 말을 전합니다.

기쁜 일과 슬픈 일들을 들어주어주며 힘을 주었던 동건, 지완, 지훈, 권범이, 규현이형과 저를 이해해주고 항상 응원해준 유담이와 이외에 여러 많은 친구들에게 고맙다는 말을 전합니다.

그리고 저를 믿어주시고 정신적, 물질적으로 많은 도움을 주신 부모님과 절 많이 생각해주는 영완이 형과 좀 쌀쌀맞긴 하지만 마음은 따뜻한 동생 연수와 많은 걱정과 격려해 주신 가족분들께 너무 감사하고 사랑합니다.

2년이라는 짧지 않은 시간동안 많은 관심과 도움으로 한층 더 성장할 수 있었습니다. 저 또한 이에 보답할 수 있도록 더 노력하여 다른 이에게 도움을 줄 수 있는 사람이 되겠습니다.

감사합니다.