



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2009-0096959
(43) 공개일자 2009년09월15일

(51) Int. Cl.

A23C 9/00 (2006.01) A23C 9/152 (2006.01)

A23C 9/158 (2006.01) A23C 7/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2008-0022063

(22) 출원일자 2008년03월10일

심사청구일자 2008년03월10일

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울 성북구 안암동5가1 고려대학교 내

(72) 발명자

김영준

서울 강남구 도곡동 역삼한신아파트 1동 502호

김준호

충남 연기군 조치원읍 고려대학교서창캠퍼스 과학
기술대학 517호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인다나

전체 청구항 수 : 총 5 항

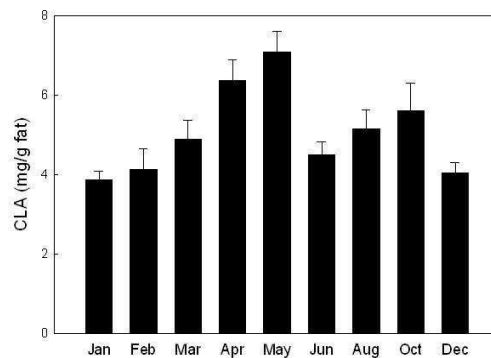
(54) 수유시기별로 얻은 우유를 이용한 공액 리놀레인산이 다량함유된 유제품의 제조방법

(57) 요약

본 발명은 수유시기별로 얻은 우유를 이용한 공액 리놀레인산이 다량 함유된 유제품의 제조방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는, 수유시기별로 암소에서 얻은 우유의 공액 리놀레인산 함량을 조사하고, 상기 우유로부터 공액 리놀레인산이 다량으로 함유된 유제품을 제조하는 방법에 관한 것이다.

본 발명에 따르면, 4월~5월 동안 건초 및 농후사료를 급여한 암소에서 얻은 우유로 제조된 유제품은 공액 리놀레인산이 다량 함유되어 있다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

정완식

충남 천안시 성환읍 성환11리 379-16

박희규

경기 용인시 수지구 상현1동 수지현대센트럴
I'park 104동 1401호

최낙진

서울 광진구 자양동 810 자양힐아파트 602호

이홍구

경기 안양시 동안구 평촌동 대원아파트 301동 504
호

오세중

광주 서구 치평동 쌍용금호아파트 209동 1101호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 R0504423

부처명 농촌진흥청

연구사업명 BIO그린21사업

연구과제명 지방산 유도체와 CLA 합성 부산물의 사료이용성 검토 및반추미생물 지방대사에 미치는 영
향에 대한 연구

주관기관 고려대학교 서창산학협력실

연구기간 2007년 01월01일 ~ 2007년 12월 31일

특허청구의 범위

청구항 1

4월~5월 동안 건초 및 농후사료를 급여한 소에서 우유를 얻는 단계를 포함하는 공액 리놀레인산이 함유된 유제품의 제조방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

건초 및 농후사료의 혼합비율은 5:5~8:2 인 것을 특징으로 하는 공액 리놀레인산이 함유된 유제품의 제조방법.

청구항 3

제1항에 있어서,

유제품은 치즈, 분유, 아이스크림, 카제인, 유당, 유장분말 및 크림분말로 이루어진 군에서 선택된 1종인 것을 특징으로 하는 공액 리놀레인산이 함유된 유제품의 제조방법.

청구항 4

제1항의 방법에 따라 제조된 공액 리놀레인산 함유 유제품.

청구항 5

제4항에 있어서,

치즈, 분유, 아이스크림, 카제인, 유당, 유장분말 및 크림분말로 이루어진 군에서 선택된 1종인 것을 특징으로 하는 유제품.

명세서

발명의 상세한 설명

기술 분야

- <1> 본 발명은 수유시기별로 얻은 우유를 이용한 공액 리놀레인산이 다량 함유된 유제품의 제조방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는, 수유시기별로 암소에서 얻은 우유의 공액 리놀레인산 함량을 조사하고, 상기 우유로부터 공액 리놀레인산이 다량으로 함유된 유제품을 제조하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

- <2> 공액리놀레인산(Conjugated linoleic acid, CLA)은 리놀레인산(*cis*-9, *cis*-12-octadecadienoic acid)의 위치적 및 기하학적 이성질체의 혼합물질로, 각각 7 및 9, 8 및 10, 9 및 11, 10 및 12 또는 11 및 13에서 공액 이중결합 배열을 갖는다. 공액리놀레인산은 암(Ha *et al.*, 1987, *Carcinogenesis* 8:1881-1887; Ip *et al.*, 1991, *Cancer Res.* 51:6118-6124; Belury *et al.*, 1996, *Nutr. Cancer* 26:149-157), 항동맥경화증(Lee *et al.* 1995, *Atherosclerosis* 108:19-25)을 포함하여 퇴행성 질환에 대한 다양한 예방 역할을 나타내며, 면역 촉진에 대한 이화작용효과를 감소시키며(Cook *et al.*, 1993, *Poult. Sci.* 72: 1301-1305), 다양한 동물모델에서 지방에 대한 단백질 비율을 개선하였다. 또한, 공액리놀레인산의 일부 이성질체는 체지방감소 효과를 향상시키는 것과 연관되어 있다(Park *et al.*, 1999, *Lipids* 23: 685-689). 공액리놀레인산은 많은 식품에서 발견되지만, 주요 식이원은 반추동물의 조직과 우유이다(Chin *et al.*, 1994, *J. Nutr.* 124: 2344-2349). 반추동물의 조직이나 낙농제품에서 발견되는 공액리놀레인산 이성질체의 프로파일은 다양하지만, 총 공액리놀레인산의 90% 이상으로 *cis*-9, *trans*-11-이성질체가 우점형인것으로 알려져 있다.
- <3> 또한, 동물 조직의 지방산 조성물들은 영양상태, 저장부(depot), 동물의 종 및 급여시간 등의 많은 요인들에 의해 영향을 받을 수 있다(Duckett *et al.*, 2002, *J. Anim. Sci.* 80: 3353-3360; Aharoni *et al.*, 1995, *J. Anim. Sci.* 73: 2712-2720). 유제품에서 공액리놀레인산의 주요 공급원은 반추동물에서 미생물에 의한 수소첨가 반응(biohydrogenation) 동안 리놀레인산 및 레놀렌산(LNA)의 이성질화로부터 유래하여, 공급원 및 지질 기질의

농도, 목초 대 곡물의 비율(Gerson *et al.*, 1985, *J Agric. Sci.* 105:27-30) 및 사료입자에 첨착 여부(Harfoot *et al.*, 1973, *Biochem. J.* 132:829-832) 등의 여러 식이요인들에 의해 영향을 받는다. n-6 및/또는 n-3 긴사슬 지방산을 포함하는 고지방 기질을 급여함과 동시에 사료급여체계를 조절하여 다양한 방식으로 암소의 우유에서 공액리놀레인산 농도를 높이하고자 하는 시도가 있었다. 이는 부분적으로 소의 식이에 의해 영향을 받는 반추위 미생물 집단과 관련되어 있을 수 있다. 게다가, 활성 공액리놀레인산 생산 반추위 미생물 집단인 부티리비브리오 피브리솔벤스(*Butyrivibrio fibrisolvens*) 는 암소에 저-불소화 사료(low-roughage diets)를 급여할 때 감소하였다(Latham *et al.*, 1972, *Appl. Microbiol.* 24: 871-877). 더욱이, 무수한 자료들을 통해 다양한 식품목에서 공액리놀레인산의 함량은 생산 조건에 의해 영향을 받는다는 사실이 밝혀져 있다(Chin *et al.*, 1994, *J. Nutr.* 124: 2344-2349; Kim *et al.*, 2002, *J. Food Sci.* 67: 1731-1737). 폭기(aeration) (Ha *et al.*, 1989, *Carcinogenesis* 8: 1881-1887), 온도, 분쇄 pH, 첨가물 및 숙성 등의 치즈 가공 변수들이 공액리놀레인산 함량에 영향을 주는 것으로 밝혀졌다. 또한, 우유의 지방산 프로파일은 수유 계절과 어떤 종류의 식이 요인들에 의해 달라진다는 것이 밝혀져 있다(Dhiman *et al.*, 1996, *J. Dairy Sci.* 79(Suppl. 1): 137-143; Kelly *et al.*, 1998, *J. Dairy Sci.* 81: 1630-1636; White *et al.* 2001, *J Dairy Sci.* 84: 2295-2301).

<4> 그러나, 수유시기에 따른 반추동물의 우유 내 공액 리놀레인산 함량 변화에 대해서는 연구된 바 없다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

<5> 따라서, 본 발명의 목적은 수유시기별로 암소에서 얻은 우유를 이용하여 공액 리놀레인산이 다량 함유된 유제품을 생산하고자 한다.

과제 해결수단

<6> 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은

<7> 4월~5월 동안 건초 및 농후사료를 급여한 소에서 우유를 얻는 단계를 포함하는 공액 리놀레인산이 함유된 유제품의 제조방법을 제공한다.

<8> 본 발명은 또한 상기 방법에 따라 제조된 공액 리놀레인산 함유 유제품을 제공한다.

효 과

<9> 본 발명에 따르면, 4월~5월 동안 건초 및 농후사료를 급여한 암소에서 얻은 우유로 제조된 유제품은 공액 리놀레인산이 다량 함유되어 있다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

<10> 이하, 본 발명의 구성을 구체적으로 설명한다.

<11> 본 발명은

<12> 4월~5월 동안 건초 및 농후사료를 급여한 소에서 우유를 얻는 단계를 포함하는 공액 리놀레인산이 함유된 유제품의 제조방법에 관한 것이다.

<13> 본 발명의 일 실시예에 따르면, 건초 및 농후사료의 혼합사료를 급여하면서 우사 내에서 사육한 암소에서 얻은 우유는 공액 리놀레인산 함량에 있어서 계절의 영향을 받으며, 1월에서 3월까지 얻은 우유는 공액 리놀레인산의 함량에 변화가 없으나, 5월에 가장 높고, 1월에 가장 낮다.

<14> 또한, 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기로부터 얻은 우유는 지방 1g당 공액 리놀레인산 6.50~7.10 mg을 함유하고 있다.

<15> 상기 우유를 이용한 유제품 제조 시 공액 리놀레인산의 함량은 보다 증가할 수 있다. 본 발명의 일 실시예에 따르면, 본 발명의 방법에 따라 얻은 우유로 치즈를 제조할 경우, 가공 공정을 거치면서 숙성 동안 미생물상의 변화로 인해 공액 리놀레인산의 함량은 지방 1g당 9.83 mg까지 증가한다. 본 발명의 치즈는 일반 치즈에 비해(2.9~7.1mg CLA/g fat) 공액 리놀레인산 함량이 상대적으로 높다.

<16> 본 발명에서 “농후사료(濃厚飼料)”는 부피가 적고 조섬유 함량은 낮으나 단백질, 가용무질소물 등의 함량이

높은 사료를 충칭하는 것으로, 통상적으로 옥수수·수수·밀·보리 등의 곡식류, 식물성 기름을 짜고 남은 껍묵류나 쌀겨·보릿겨·밀기울 등과 같은 강피류, 어분 또는 이들을 일정한 비율로 섞어 만든 배합사료 등이 이에 속한다. 본 발명에서는 하기 표 1에 농후사료의 성분을 기재하였으나 기술서 상 범위 내에서 다양한 변형 및 수정이 가능함은 당업자에게 명백한 것이며, 이러한 변형 및 수정이 첨부된 특허청구범위에 속함을 당연한 것이다.

- <17> 또한, 본 발명은 건초 및 농후사료를 5:5~8:2 의 비율로 혼합한 사료를 암소에 급여하는 것이 좋다. 바람직하게는, 반추위 미생물에 의해 리놀레인산이 공액 리놀레인산으로 전환시키기에 적당한 사료입자도를 갖기 위해 건초 및 농후사료의 혼합 비율이 7:3인 것이 좋다.
- <18> 또한, 상기 유제품은 치즈, 분유, 아이스크림, 카제인, 유당, 유장분말, 크림분말 등이 있으나, 이에 제한하지는 않는다.
- <19> 본 발명의 방법에 따라 제조되는 공액 리놀레인산은 c9, t11 및 t10, c12을 포함함을 특징으로 한다.
- <20> 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다.
- <21> 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.
- <22> <실시예 1> 수유시기(계절적 변화)에 따른 공액 리놀레인산 함량 조사
- <23> 건초와 농후사료를 7:3의 비율로 혼합한 사료를 홀스타인 암소(Holstein cows, 650 kg)에 급여하면서 우사 내에서 사육하였다. 상기 우사는 치즈 생산 농장의 전형적인 특징들, 천연 목초, TMR 배합기(total mixed ration facility) 및 유사한 시기의 수유군을 선택하기에 충분한 암소의 수를 모두 갖추고 있다.

표 1

농후사료 조성표

성분 조성	(g/kg DM)	성분 조성	(g/kg DM)
Corn grain	630	DM (Dry Matter)	605
Alfalfa silage	135	ADF (Acid Detergent Fiber)	124
Alfalfa hay	93.0	NDF (Neutral Detergent Fiber)	245
Soybean meal	12.0	CP (Crude Protein)	175
Limestone	10.0	C16:0	6.8
Calcium phosphate	5.0	C16:1	0.04
Sodium bicarbonate	5.0	C18:0	1.5
Calcium sulfate	0.5	C18:1	12.4
Magnesium oxide	35.0	C18:2	25.0
Protein supplement ^c	2.5	C18:3	1.8
Mineral-vitamin supplement ^a	60.0	기타	0.4
^a Mineral-vitamin mix contained Mn, 3500; Zn, 3000; Cu, 750; Fe 20; I, 85; Co, 15; 및 Se, 35; retinyl acetate (2,100,000 IU/kg), cholecalciferol (390,000 IU/kg), α-tocopheryl acetate (7500 IU/kg)			

- <24>
- <25> 도 1에 나타난 바와 같이, 매달 젖소에서 얻은 우유 지방의 공액 리놀레인산 함량은 3.87~7.10 mg CLA/g fat로 다양하였다. 4월 및 5월에 얻은 우유는 보통 겨울(12월~3월)에 분비된 우유보다 공액 리놀레인산 농도가 더 높았다.
- <26> 또한, 건초와 농후사료를 7:3으로 혼합한 사료를 급여하면서 우사 내에서 사육한 암소의 경우 1월에서 3월까지 얻은 우유 시료 간에는 큰 변화가 관찰되지 않았다. 공액 리놀레인산 함량은 5월에 가장 높았고(7.10 mg/g fat), 1월에 가장 낮았다(3.87 mg/g fat).
- <27> <실시예 2> 치즈 제조 및 공액 리놀레인산 함량 조사
- <28> 실시예 1에서 4월에서 5월에 분비된 우유는 공액 리놀레인산 함량이 높아 이 시기에 15일 간격으로 4번 우유를 수집하고, 상기 우유로부터 치즈를 제조하였다. 15일마다 4개의 다른 치즈 블록을 제조하기 위해 표준 방법에 따라 2개의 다른 우유통을 사용하였다.

- <29> 간단히 말해, 스타터 균주로 락토코커스 락티스 서브스페시즈 크레모리스(*L. lactis ssp. cremoris*) CCRC12586를 사용하고, 상기 균주의 배양액을 30℃에서 우유지방의 5 중량부로 우유에 첨가하였다. 우유를 응고시키기 위해 레닛을 이용하고, 응고된 우유는 큐브에서 3/8로 절단하고 나서, 섞고, 37℃에서 30분 간 조리하고, 45분 간을 더 유지하였다. 조리 후, 유장에서 커드(curd)를 분리해내고, 커드로부터 덩어리가 형성되었다.
- <30> 다음으로, 상기에서 제조한 16개의 치즈 블록을 숙성 센터에서 숙성시켰다. 보통, 한 개의 치즈 블록은 1kg당 평균 이틀 동안 고염수에 담지하였다. 고염수 염장기가 끝난 후, 15℃의 통풍실에서 치즈를 숙성시켰다. 16개의 치즈 블록은 4달 및 7달 동안 숙성시켜 시료로 사용하였다.

표 2

치즈에서 공액 리놀레인산의 함량 변화

수유일자	4달 숙성시킨 치즈	7달 숙성시킨 치즈
3월	7.83	9.83
4월 첫째 주	6.77	9.81
4월 셋째 주	6.67	8.40
5월	5.77	8.80
평균	6.76	9.21

- <31>
- <32> 표 2에 나타난 바와 같이, 본 발명의 치즈는 일반 치즈에 비해(2.9~7.1mg CLA/g fat) 상대적으로 높은 농도의 공액 리놀레인산을 포함하였다(5.77~9.83 mg CLA/g fat).
- <33> 또한, 4달 숙성한 것보다는 7달 숙성한 치즈에서 공액 리놀레인산 농도는 더욱 증가하였다.
- <34> 또한, 3월과 5월 사이에 얻은 우유로 만든 치즈의 공액 리놀레인산 함량을 수유시기와 비교했을 때, 시료 간에 차이가 발견되었다(도 1 참조). 즉, 비록 통계적으로 유의한 것은 아니지만, 3월과 4월 초에서 높았고, 4월말과 5월에서는 상대적으로 낮았다.
- <35> <실험예 1> 지방산 프로파일 조사
- <36> 대조군 치즈(숙성시키지 않음, indoor)와 4달 및 7달 숙성시킨 치즈의 지방산 프로파일을 비교하였다. 치즈 시료는 유기용매 혼합액(클로로포름:메탄올 = 3:1; 볼텍스 믹서로 혼합함) 5mL로 두 번 추출하였다. 헵타데카노산(Heptadecanoic acid (C17:0; Sigma Chemical Co. St. Louis, MO, USA))을 내부 표준물질로 첨가하였다(recovery = 80%). 상부의 용매층을 수집하고, 소듐 실레이트로 탈수하고, 건조될 때까지 질소를 충전하였다. 지방산은 톨루엔 1mL로 녹이고, Kim 및 Liu(*J. Food Sci.* 67: 1731-1737, 2002)의 방법에 따라 메틸화시켰다. 지방 시료들은 -20℃에서 저장한 다음 GC로 분석하였다. 지방산 메틸 에스테르는 불꽃이온화검출기 및 HP3392 모델 적분기가 장착된 휴렛 팩커드 모델 HP5890 가스 크로마토그래프(산 페르난도, 캐나다)를 이용하여 Supelcowax-10 fused silica capillary column (60 m×0.32 mm, 필름두께: 0.5μm; Supelco., Inc, Bellefonte, PA)으로 분석하였다. 분석 조건은 다음과 같다:
- <37> 2.4 mL/min 헬륨 방출; 유입기 온도240℃; 검출온도 250℃; 칼럼 챔버 온도는 120℃(5분)에서 시작하고, 1분당 10℃씩 220℃까지 올리고, 30분간 유지함. 0.5~5μg의 지방산을 포함하는 시료(0.5~2μl)를 스플릿(split) 모드로 칼럼에 주입함.
- <38> 지방산을 동정 및 정량하기 위해, *Cis*-9, *trans*-11 옥타데카디엔산(99% *cis*-9, *trans*-11 이성질체; Matreya, Inc. Pleasant Gap, PA) 및 알려진 표준 혼합 지방산(Sigma Chemical Co. St. Louis, MO)을 사용하였다.
- <39> 도 2에 나타난 바와 같이, 리놀레인산(C18:3)의 평균 농도는 숙성시키지 않은 치즈와 비교하여 숙성된 것에서 더 높았고, 4달 및 7달 숙성시킨 치즈 간에는 차이가 없었다. 스테아르산(C18:0)은 숙성된 치즈에서 함량이 높았고, 숙성기간에 따라 약간의 차이를 보였다.

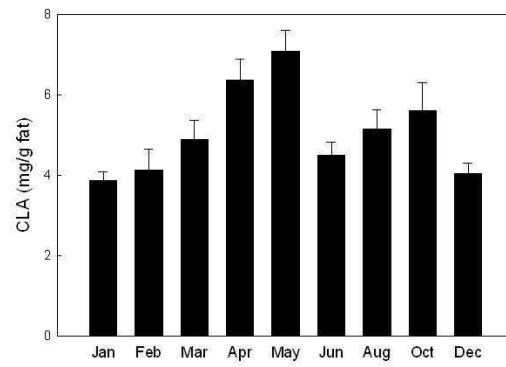
도면의 간단한 설명

- <40> 도 1은 계절별로 얻은 우유의 공액 리놀레인산 함량 변화를 나타낸 그래프이다.

<41> 도 2는 우사 내 사육 암소의 우유로 제조한 치즈의 지방산 프로파일을 나타낸 그래프이다.

도면

도면1



도면2

