



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0085568
(43) 공개일자 2019년07월19일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A23K 10/30 (2016.01) A23K 20/10 (2016.01)
A23K 20/189 (2016.01) A23K 20/195 (2016.01)
A23K 50/80 (2016.01)

(52) CPC특허분류

A23K 10/30 (2016.05)
A23K 20/10 (2016.05)

(21) 출원번호 10-2018-0002607

(22) 출원일자 2018년01월09일

심사청구일자 2018년01월09일

(71) 출원인

인하대학교 산학협력단

인천광역시 미추홀구 인하로 100(용현동, 인하대학교)

(72) 발명자

이철균

서울특별시 서초구 나루터로4길 49, 334동 601호

김진우

서울특별시 송파구 올림픽로 99, 138동 2302호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

한윤호

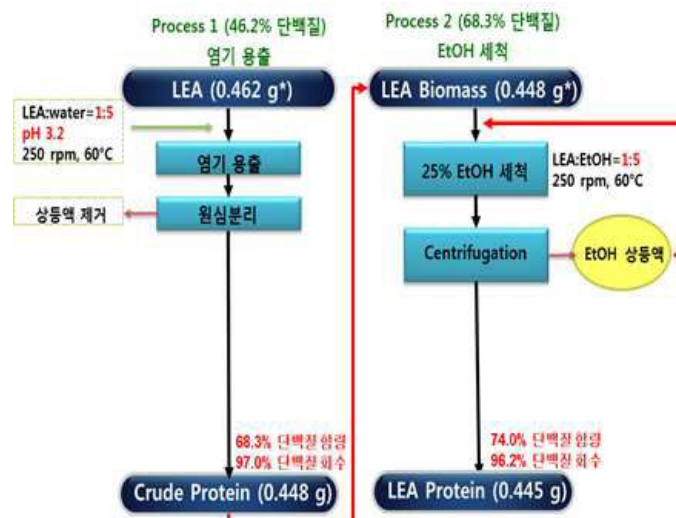
전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 탈지미세조류를 이용한 고단백 사료 및 이의 제조방법

(57) 요약

본 발명은 바이오디젤 생산 부산물인 탈지미세조류로부터 미세조류 단백질을 선택적으로 추출하고 함량을 증진시킨 탈지미세조류를 이용한 고단백 사료 및 이의 제조방법을 제공한다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A23K 20/189 (2016.05)

A23K 20/195 (2016.05)

A23K 50/80 (2016.05)

(72) 발명자

조재민

충청남도 천안시 서북구 쌍용17길 8, 1동 1304호

김승기

서울특별시 동작구 상도로60길 20, 102동 1106호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 M01201720090267

부처명 해양수산부

연구관리전문기관 해양수산과학기술진흥원

연구사업명 해양바이오에너지생산기술개발사업

연구과제명 해양미세조류 이용 바이오디젤 생산기술 개발(2017)

기 여 율 1/1

주관기관 인하대학교 산학협력단

연구기간 2017.04.01 ~ 2018.02.28

명세서

청구범위

청구항 1

조단백질로 탈지미세조류의 추출물을 포함하는, 어류 및/또는 동물 사료용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 탈지미세조류의 추출물은 탈지미세조류를 준비하는 단계;

상기 탈지미세조류에 유기용매를 처리하여 지질 및 탄수화물을 제거하는 단백질 농축단계;

단백질이 농축된 탈지미세조류에 염기성 용액을 처리하여 단백질을 용출시키는 단백질 용출 단계; 및

상기 단백질 용출 단계에서 용출된 단백질에 산성 용액을 처리하여 단백질을 침전시키는 단백질 침전단계로 제조되는, 어류 및/또는 동물 사료용 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 탈지미세조류의 추출물은 미세조류에 포함된 비단백질 성분을 유기용매로 제거한 후 유기용매 및 염기성 용액을 이용하여 순차적으로 추출한, 어류 및/또는 동물 사료용 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

하나 이상의 사료첨가제를 추가로 포함하는, 어류 및/또는 동물 사료용 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 사료첨가제는 항생제, 생균제, 효소제, 유기산제, 향미제, 감미제, 향산화제, 천연물질 또는 기능성 물질인, 어류 및/또는 동물 사료용 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 미세조류는 테트라셀미스, 스피루리나, 클로렐라 또는 식물성 플라크톤인, 어류 및/또는 동물 사료용 조성물.

청구항 7

탈지미세조류를 준비하는 단계;

상기 탈지미세조류에 유기용매를 처리하여 지질 및 탄수화물을 제거하는 단백질 농축단계;

단백질이 농축된 탈지미세조류에 염기성 용액을 처리하여 단백질을 용출시키는 단백질 용출 단계; 및

상기 단백질 용출 단계에서 용출된 단백질에 산성 용액을 처리하여 단백질을 침전시키는 단백질 침전단계를 포함하는, 사료용 조단백질의 생산방법.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 유기용매는 에탄올, 메탄올, 아세톤, 초산에틸, 에틸렌글라이콜 또는 벤젠인, 방법.

청구항 9

제7항에 있어서,

상기 산성 용액은 황산, 염산, 질산 및 초산인, 방법.

청구항 10

제7항에 있어서,

상기 염기성 용액은 수산화칼슘(Ca(OH)_2), 수산화나트륨(NaOH) 또는 암모니아인, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 고단백 사료 및 이의 제조방법에 관한 것으로 더 상세하게는 탈지미세조류를 이용한 고단백 사료 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 동물 사료 시장 규모 확대 중으로 동물사료 특히 애견 시장의 48%를 차지 규모이나 외국산 수입이 82% 이상을 차지하고 있으나 국내 기업에 의한 시장 점유율은 미비한 현실이다. 현재, 애견 비만 문제 급증하고 있으며 Canadian Animal Health Institute에 따르면 북미지역 반려동물 비만/과체중 비율이 심각한 문제로 지적(2017년 3월)되고 있으며 북미 반려견/반려묘 50% 이상이 과체중이며 안전하고 효과적인 체중조절이 필요하다고 보고하였다. 국내 반려견의 40%가 비만으로 반려견 제1질병으로 확인되었지만 건주의 관심부족으로 방치 상태로 (2015.09 이리온/SK텔레콤) 수의사 지시에 따라 사료의 영양성분 및 열량을 제한하는 방법을 권장하며 아미노산 조성분과 비타민과 미네랄의 균형적 급여가 중요하다. 따라서 단백질 고함량 사료의 필요성이 높아지고 있으며 동시에 근육량 증가에 효과가 있는 단백질 사료 급여를 통해 항비만 효과를 높일 수 있는 사료의 개발이 중요한 이슈이다.

[0003] 산업적으로 단백질은 사료, 식품첨가제 등으로 사용되는 매우 중요한 물질이며 옥수수 및 대두와 같은 곡물의 단백질을 사용하는데 곡물값 상승에 따라 미세조류 유래 바이오디젤 생산가를 낮추기 위해서는 지질 추출 후 버려지는 부산물인 탈지미세조류 활용을 통한 부산물 크레딧(credit)을 확보하는 것이 하나의 방안으로 고려되고 있다. 일반적으로 해조류(seaweed)와 미세조류(microalgae)에는 안지오텐신(angiotensin) 전환효소의 활성을 저해시키는 활성물질, 혈전용해 활성, 티로시나아제(tyrosinase) 저해물질 등을 많이 함유하고 있어 성인병 예방에 우수한 기능성 식품의 소재로 활용될 수 있고 미세조류는 비만에 대한 기능성 소재의 생산을 통해 사료 및 식재료 첨가용 고부가가치 제품으로 개발·판매될 때 고부가가치 건강기능성 식품으로서의 산업화를 가능하게 하며 농산업 부산물을 이용한 고부가가치 사료 생산 및 건강기능성 식품산업의 발전에 따라 사료원료 확보, 동물사료 안정성 문제 해결 및 FTA 등과 같은 세계 무역 환경에서 농업과 식품산업이 함께 성장 가능하게 하는 식품소재이다. 한편, 바이오 디젤을 제조를 위해 미세조류의 일종인 *Tetraselmis*로부터 추출공정을 거친 후 남은 탈지미세조류를 활용하는 방안에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으나 탈지미세조류의 극히 일부가 사용될 뿐 대부분은 적절히 회수되지 않고 폐기되고 있어 효과적 이용을 통한 부가가치 창출을 제고할 필요성이 있고 탈지미세조류로부터 분리된 단백질의 함량을 증진시켜 동물 사료 및 식품을 위한 산업부산물 유래 재생 가능한 단백질 원료의 활용방안도 다양하게 시도되고 있다. 더욱이, 탈지미세조류에 포함된 아미노산이 다양하고 함량에 차이가 많아 유기용매와 산도 조절법을 병행한 추출 및 농축법 개발이 필요한 실정이다. 이와 관련하여 대한민국 공개특허 제2015-0092549호는 미세조류 부산물을 함유하는 어류 양식용 배합사료조성물에 대해 개시하고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0004] 그러나 상기 선행기술의 경우, 미세조류 부산물로부터 분리된 단백질의 함량이 저조하여 고단백질 함량의 사료

용으로 부적합하고 현재까지 미세조류 부산물인 탈지미세조류를 이용한 사료화에 관한 연구 사례는 없다.

[0005] 본 발명은 상기와 같은 문제점을 포함하여 여러 문제점들을 해결하기 위한 것으로서, 지방감소 및 근육증가 등 항비만 효과가 증진된 탈지미세조류를 이용한 고단백 사료 및 이의 제조방법을 제공하는 것을 목적으로 한다. 그러나 이러한 과제는 예시적인 것으로, 이에 의해 본 발명의 범위가 한정되는 것은 아니다.

과제의 해결 수단

[0006] 본 발명의 일 관점에 따르면, 조단백질로 탈지미세조류의 추출물을 포함하는, 어류 및/또는 동물 사료용 조성물이 제공된다.

[0007] 본 발명의 다른 일 관점에 따르면, 탈지미세조류를 준비하는 단계; 상기 탈지미세조류에 유기용매를 처리하여 지질 및 탄수화물을 제거하는 단백질 농축단계; 단백질이 농축된 탈지미세조류에 염기성 용액을 처리하여 단백질을 용출시키는 단백질 용출 단계; 및 상기 단백질 용출 단계에서 용출된 단백질에 산성 용액을 처리하여 단백질을 침전시키는 단백질 침전단계를 포함하는, 사료용 조단백질의 생산방법이 제공된다.

발명의 효과

[0008] 상기한 바와 같이 이루어진 본 발명의 일 실시예에 따르면, 바이오디젤 생산 부산물인 탈지미세조류로부터 미세조류 단백질을 선택적으로 추출하고 함량을 증진시킨 고단백 조사료 생산효과를 구현할 수 있다. 물론 이러한 효과에 의해 본 발명의 범위가 한정되는 것은 아니다.

도면의 간단한 설명

[0009] 도 1은 본 발명의 유기용매와 염기성 용액을 이용한 고단백 사료제조 공정을 나타내는 공정도이다.

도 2는 탈지미세조류를 급여한 마우스의 누적체중을 분석한 그래프이다.

도 3은 탈지미세조류를 급여한 마우스의 식이효율을 분석한 그래프이다.

도 4a는 탈지미세조류를 급여한 마우스의 심장 및 간 중량을 측정된 그래프이다.

도 4b는 탈지미세조류를 급여한 마우스의 지방 및 근육(다리) 중량을 측정된 그래프이다.

도 5는 탈지미세조류를 급여한 마우스의 혈당, 중성지방 및 총콜레스테롤을 분석한 그래프이다.

도 6은 탈지미세조류를 급여한 마우스로부터 면역세포의 일종인 CD8+ T세포의 발현을 분석한 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0010] 용어의 정의:

[0011] 본 문서에서 사용되는 용어 "미세조류(microalgae)"는 바다에 서식하는 식물성 플랑크톤으로, 흔히 적조를 일으키는 코클로디니움 같은 플랑크톤 역시 미세조류에 속한다. 해양 바이오에너지 연구가 주목하는 미세조류는 특히 지질, 즉 기름 성분이 풍부한 미세조류 종(種)이다. 크기는 10 μm(미크론, 1m의 100만분의 1)정도, 머리카락 굵기의 10분의 1 안팎이다.

[0012] 본 문서에서 사용되는 용어 "탈지미세조류(lipid-extracted microalgae)"는 미세조류 배양 후 지질을 추출하고 잔류한 고체 부산물을 말하며 일반적으로 미세조류 건조중량의 30-50%를 차지한다. 탈지미세조류는 잔류 지질 외에 다량의 단백질이 함유되어 있는데 다른 곡류에 비해 많은 양의 단백질(22%-25%)을 함유하고 있으며 단백질 아미노산 조성이 다양하여 필수아미노산도 풍부하게 포함되어 있다.

[0013] 발명의 상세한 설명:

[0014] 본 발명의 일 관점에 따르면, 조단백질로 탈지미세조류의 추출물을 포함하는, 어류 및/또는 동물 사료용 조성물이 제공된다.

[0015] 상기 조성물에 있어서, 상기 조단백질 10 중량부를 기준으로 상기 지질은 5 내지 10 중량부, 상기 탄수화물은 2 내지 30 중량부, 상기 필수비타민은 0.1 내지 0.5 중량부 및 상기 무기질은 0.5 내지 5 중량부를 포함할 수 있다.

[0016] 상기 조성물에 있어서, 상기 탈지미세조류의 추출물은 탈지미세조류를 준비하는 단계; 상기 탈지미세조류에 유

기용매를 처리하여 지질 및 탄수화물을 제거하는 단백질 농축단계; 단백질이 농축된 탈지미세조류에 염기성 용액을 처리하여 단백질을 용출시키는 단백질 용출 단계; 및 상기 단백질 용출 단계에서 용출된 단백질에 산성 용액을 처리하여 단백질을 침전시키는 단백질 침전단계로 제조될 수 있다.

[0017] 상기 조성물에 있어서, 상기 탈지미세조류의 추출물은 미세조류에 포함된 비단백질 성분을 유기용매로 제거한 후 유기용매 및 염기성 용액을 이용하여 순차적으로 추출할 수 있고 하나 이상의 사료첨가제를 추가로 포함할 수 있으며 상기 사료첨가제는 항생제, 생균제, 효소제, 유기산제, 향미제, 감미제, 항산화제, 천연물질 또는 기능성 물질일 수 있다.

[0018] 상기 조성물에 있어서, 상기 미세조류는 테트라셀미스, 스피루리나, 클로렐라 또는 식물성 플라크톤일 수 있다.

[0019] 본 발명의 사료용 조성물에는 하나 이상의 사료첨가제를 추가로 포함할 수 있고 상기 사료첨가제는 항생제, 생균제, 효소제, 유기산제, 향미제, 감미제, 항산화제, 각종 천연물질 또는 기능성 물질일 수 있다. 이때 상기 생균제는 효모, 유산균, 국균 등을 사용할 수 있고 상기 유산균은 락토바실러스 락티스, 락토바실러스 루테리, 락토바실러스 불가리쿠스, 락토바실러스 브레비스, 락토바실러스 살리마리우스, 락토바실러스 애시도필렛, 락토바실러스 카제이, 락토바실러스 커바투스, 락토바실러스 퍼네펜, 락토바실러스 프란타럼, 락토바실러스 헬베티쿠스, 로돕슈도모나스 캡슐레이타, 바실러스 렌투스, 바실러스 리체니포미스, 바실러스 서브틸리스, 바실러스 세레우스, 바실러스 코아글란스, 바실러스 폴리프멘티쿠스, 바실러스 푸밀루스, 비피도박테리움 롱검 또는 비피도박테리움 비피덤 일 수 있고 유익 곰팡이는 아스페질러스 나이저 또는 아스페질러스 오리제일 수 있으며 효모제는 맥주효모, 토룰라효모, 제빵효모, 양조효모, 조사건조효모 또는 효모배양물일 수 있다.

[0020] 또한, 효소제는 α -아밀라아제, 말토게닉아밀라아제, β -아밀라아제, 셀룰라아제, β -글루키나아제, 글루코아밀라아제, 헤미셀룰라아제, 펙티나아제, 락타아제, 키시라나제, 키토사나아제, β -만나아제, 리파아제, 피타아제, 알칼리성프로테아제, 산성프로테아제, 중성프로테아제, 식물성프로테아제 또는 브로멜라인일 수 있고 유기산은 푸마릭산, 개미산, 초산, 프로피온산, 소빅산, 구연산, 젖산, 뷰티릭산, DL-사과산, 낙산, 낙산나트륨, 소르빈산, 소르빈산칼륨, 호박산, 초산, 안식향산, 안식향산나트륨, 인산, DL-주석산, L-주석산, 푸말산, 화이트카본, 블랙카본, 활성탄, 실리카분말, 염화주석, 에톡시킨, 부틸하이드록시톨루엔, 부틸하이드록시아니솔, 몰식자산프로필, 프로피온산, 프로피온산칼슘, 프로피온산나트륨일 수 있다.

[0021] 또한, 천연물질은 식물추출물로 정유(essential oil), 허브, 머루, 또는 옷일 수 있고 기능성물질은 L-카르니틴 또는 복합 리노레익산(Conjugated linoleic acids: CLA)일 수 있으며 항산화제는 에톡시킨 또는 BHT(Butylated hydroxytoluene)BHA(Butylated hydroxyanisol)일 수 있다.

[0022] 본 발명의 다른 일 관점에 따르면, 탈지미세조류를 준비하는 단계; 상기 탈지미세조류에 유기용매를 처리하여 지질 및 탄수화물을 제거하는 단백질 농축단계; 단백질이 농축된 탈지미세조류에 염기성 용액을 처리하여 단백질을 용출시키는 단백질 용출 단계; 및 상기 단백질 용출 단계에서 용출된 단백질에 산성 용액을 처리하여 단백질을 침전시키는 단백질 침전단계를 포함하는, 사료용 조단백질의 생산방법이 제공된다. 상기 사료용 조단백질의 생산방법의 공정은 미세조류의 특징에 따라 역순으로 진행 될 수 있다.

[0023] 상기 생산방법에 있어서, 상기 유기용매는 에탄올, 메탄올, 아세톤, 초산에틸, 에틸렌글라이콜 또는 벤젠일 수 있고 상기 산성 용액은 황산, 염산, 질산 및 초산일 수 있으며 상기 염기성 용액은 수산화칼슘($\text{Ca}(\text{OH})_2$), 수산화나트륨(NaOH) 또는 암모니아일 수 있다.

[0024] 본 발명의 탈지미세조류 유래의 고단백 조사료는 종래 조단백질원에는 포함되지 않는 글리신(glycine), 아스파라긴(asparagine), 류신(leucine), 알라닌(alanine) 등의 아미노산을 포함하고 있어 영양학적으로 우수하며 사료의 조단백질원으로 전부 대체해서 사용하거나 종래의 조단백질원인 예컨대 카제인, 대두박, 육골분, 어분, 주정박 등 일부를 탈지미세조류와 혼합하여 사용할 수 있다.

[0025] 본 발명자들은 바이오디젤 생산을 위해 지방을 비롯한 비단백질 성분을 추출 후 남은 탈지미세조류의 극히 일부가 사용되기는 하나 대부분은 적절히 회수되지 않고 폐기되고 있어 효과적 이용을 통한 부가가치 창출의 제고에 대한 필요성에 주목하고 예의노력한 결과, 제한아미노산의 함량이 높아 조사료로서 활용가치가 높은 산업부산물이자 미세조류의 일종인 *Tetraselmis*로부터 미세조류 단백질을 선택적으로 추출하고 함량을 증진시킨 단백질 고함량 조사료를 생산하는 방법을 완성하였다. 본 발명의 고단백 조사료는 기존, 탈지미세조류 바이오매스의 경우 건조 중량의 적어도 20% 단백질을 포함하며 단일 또는 단계적 추출법을 이용하여 단백질 함량이 50% 이상 바람직하게는 70% 이상으로 고함량화가 가능하므로 동물 사료 외에 식품 성분 및 화장품을 포함한 다양한 산업용 첨

가제로 사용이 가능하다.

실시예 1: 탈지미세조류(LEA-lipid extracted microalgae) 생산

일반적으로 미세조류로부터 지질을 추출하는 방법은 메탄올 또는 헥산용매추출이 단독으로 사용되거나, 약산을 이용한 약산+유기용매 방법을 사용할 수 있으며, 오일 압착 방법과 결합해서 사용될 수 있다. 더불어 초임계 탄산가스(SC-CO₂) 추출법을 적용하여 기존의 유기용매 지질추출법을 대체할 수 있다. 본 발명의 지질추출은 용매 추출 형태인 기계적인 방법 및 화학적인 방법을 결합해서 수행하였다. 구체적으로는 약산(올레인산 등)을 10%(w/v)으로 메탄올에 용해한 용액에 미세조류 산성고체추출매를 반응기에 넣고 밀봉한 교반하여 탄소수 17의 포화지방산의 메틸에스터(methyl ester)를 내부 표준물질로 사용하여 생성된 메틸에스터(methylester)를 정량하였다.

실시예 2: 탈지미세조류(LEA) 조성 분석

종래 연구(미세조류 일반성분 분석)(주동식, 생물자원소재로서 미세조류, *BioWave*, Vol.2, No.7, 2005)에 따르면 지질추출 전의 미세조류의 주요성분은 지질, 탄수화물 및 단백질이며 미세조류 종류에 따라 탄수화물(6-52%), 단백질(5-23%) 및 지방(7-23%) 조성에 큰 차이가 알려져 있다. 탈지미세조류의 주요성분 함량 분석은 표준 측정 방법에 따라 킬달 분석법, 에테르를 사용한 속실텟 추출법, 직접 회화법을 이용하여 단백질, 지방, 회분의 함량을 측정하였으며 탄수화물 함량은 고성능 액체 크로마토그래피를 이용한 글루코오스와 자일로스를 정량을 통해 셀룰로오스와 헤미셀룰로오스 함량을 확인하였고(Venugopal Mend et al., *Energies*, 7954-7676, 2015) 이에 따라 분석한 결과, 수분 11%, 조단백질 22%, 탄수화물 9.7%, 조지방 0.2%, 및 회분 33%로 나타났다. 육상 식품과 달리 리그닌을 포함하지 않는 것으로 나타났으며 회분은 탄산칼슘형태로 이산화탄소를 고정함으로 높은 수준을 보였다(표 1 참조). 상기 탈지미세조류의 주요 성분분석 결과를 하기 표 1에 요약하였다.

표 1

	단백질	조지방	탄수화물		회분	리그닌	합계
함량 (%)	22.7	0.74	9.7 (육탄당)	0 (오탄당)	32.6	> 0.1	65.9

실시예 3: 2단 공정을 통한 단백질 및 아미노산 고함량화

단백질 고함량 탈지미세조류 생산을 위해 미세조류에 포함된 비단백질인 지질성분 및 셀룰로오스를 유기용매를 이용하여 제거하는 1차와 2차 공정이 결합된 2단 공정을 통해 단백질 함량이 3.0배 증진된 추출물 확보하였다.

구체적으로, 2단 공정은 기존 염기이용 또는 유기용매 추출 공정의 개량을 위해 2 mol NaOH를 이용하여 추출용매의 pH를 조절하여 단백질의 수소결합 붕괴유도를 통한 단백질의 표면 전하량을 증가시켜 단백질을 추출하였다. 2 mol NaOH를 이용해 용출 pH 13, 용출온도 64℃, 용출시간 6.82 h으로 조건을 설정하였다. 추출액은 4,000 X g, 4℃ 조건에서 10분동안 원심분리하여 상등액을 회수하였다. 단백질 침전은 5mol HCl을 이용해 단백질의 전하가 최소화되는 등전점 pH를 3.38로 조절하여 교반한 후 10,000 X g 4℃ 조건에서 원심분리하여 70% 이상의 단백질 함량을 나타내는 단백질 고함량 탈지미세조류를 생산하였다(도 1). 상기 단백질 고함량화 탈지미세조류의 주요 아미노산 성분분석 결과를 하기 표 2에 나타냈으며 단백질 고함량화에 따라 아미노산의 함량도 비례하여 증가하는 경향을 보여 단백질 고함량화에 따른 아미노산 손실이 없는 것으로 확인되었다.

표 2

	단백질	Lys	Thr	Met	Glu	Asp	Lue	Ala	Cys
옥수수 (곡류농후)	7.2	0.9	0.3	0.7					0.2
대두박 (곡류농후)	46.2	3.4	1.8	0.6					0.6
옥골분 (동물농후)	51.4	3.0	1.6	0.7					0.4
어분 (동물농후)	62	4.2	2.3	2.0					0.6
주정박 (부산농후)	25.7	0	0	0					0

LEA원물	22.4	1.3	1.0	0.6	2.3	2.0	1.7	1.5	0.6
LEA 단백질 고합량	74.0	4.1	3.6	2.0	7.8	6.9	6.6	5.5	1.1

[0035] 실시예 4: 항비만 사료 제조 및 조성

[0036] 탈지미세조류의 사료화 연구를 위해 단백질 고합량화 사료를 일정량(5-15%) 첨가하여 항비만 효과를 나타내는 사료를 제조하였다. 종래의 마우스 사료에 단백질원으로 15% 카제인(C15)을 첨가하여 대조군으로 하였으며 탈지미세조류 10%와 카제인 5% 첨가군(L10C5)을 시험군으로 하여 사료를 제조하였다. 상기 첨가된 카제인과 탈지미세조류 고합량화 사료는 단백질 함량이 70%로 조절하고 나머지 30% 부분은 셀룰로오스를 첨가하였다(표 3 참조). 상기 탈지미세조류를 포함하는 사료 조성을 하기 표 3에 요약하였다.

표 3

탈지미세조류를 포함하는 사료 조성

종류	15% 카제인 C15	탈지미세조류 사료 L10C5	
Casein	175	탈지미세조류	카제인
		117	58
D.L-methionine	2.5	2.5	
Starch	620.5	620.5	
Cellulose	100	63	
Corn oil	50	50	
Mineral mix	40	40	
Vit.max	10	10	
Choline chloride	2	2	

[0038] 실시예 5: 마우스 실험 모델

[0039] 본 발명에 사용된 실험동물은 6주령의 수컷 Sprague-Dawley 마우스(Samtaco, Yongin, S. Korea) 20마리를 이용하여 대조군은 기존 사료의 단백질원인 15% 카제인을 포함한 식이군(C15, 일반 카제인 식이군, n=10), 실험군은 기존 사료 단백질원인 카제인을 미세조류로 대체한 것으로 10% 탈지미세조류+5% 카제인 식이군 (L10C5: 저 카제인 식이군, n=10)로 구성한 후 8주간 진행하였다. 상기 마우스를 환경적응을 위해 1주간 예비사육을 실시하였고 사육실의 실내온도는 23±1℃, 습도는 50±5%를 유지하였다. 또한, 사육 기간 동안 명기는 20:00~08:00시로 설정하였고 식이와 물은 자유롭게 섭취 가능하도록 하였다.

[0040] 실시예 6: 누적체중 및 식이효율 분석

[0041] 상기 마우스를 대상으로 탈지미세조류를 급여한 실험군과 대조군의 누적체중 및 식이효율을 분석하였다. 1주일 간 일반사료를 이용해 적응을 위한 예비사육을 마친 상기 마우스를 대상으로 10% 탈지미세조류 + 5% 카제인 (L10C5) 식이를 급여한 실험군과 15% 카제인 식이(C15)를 급여한 대조군의 체중을 주 1회 3반복 측정하여 전주 대비 금주 누적체중 확인 및 전체 누적체중을 같은 기간 동안 섭취한 누적 급여량으로 나누어 식이효율을 확인하였다.

[0042] 그 결과, 대조군(C15)과 비교하여 탈지미세조류 및 카제인 혼합 투여군(L10C5)에서 체중 증가가 확인되지 않아 상기 실험군에서 체중증가 요인이 존재하지 않음을 확인하였다(도 2). 또한 식이량 대비 체중증가의 지표인 식이효율도 대조군(C15)과 비교하여 탈지미세조류 및 카제인 혼합 투여군(L10C5)에서 낮게 나타났으므로 식이량 대비 체중증가 효과가 낮음을 확인하였다(도 3).

[0043] 실시예 7: 조직 및 기관 중량 측정

[0044] 본 발명의 일 실시예에 따라 본 발명의 일 실시예에 따라 조직 및 기관 중량 측정을 위해 10% 탈지미세조류 + 5% 카제인 식이(L10C5)를 급여한 실험군과 15% 카제인(C15) 식이를 급여한 대조군의 7주령의 마우스를 overnight로 절식한 후 에테르 마취하여 부검을 진행하고 장기 중 심장과 간의 절대 중량을 3회 반복 측정하여 평균치 값을 측정하였다.

[0045] 그 결과, 대조군(C15)과 비교하여 탈지미세조류 및 카제인 혼합 투여군(L10C5)의 심장 무게가 더 낮은 것으로

나타났다(도 4a). 이는 동일 체중 대비 심장 무게가 낮음으로 심장의 기능이 대조군에 비해 우수함을 나타내는 간접증거이다. 또한, 고환부위 지방 중량을 분석한 결과 유의한 차이를 나타내지 않았으나 탈지미세조류 및 카제인 혼합 투여군(L10C5)의 지방량이 낮게 나타났으므로 상기 결과는 탈지미세조류 급여에 따라 지방 축적이 감소한 것으로 사료된다. 아울러, 탈지미세조류 및 카제인 혼합 투여군(L10C5)의 다리 근육량이 대조군과 비교하여 유의하게 증가하여 탈지미세조류 급여 시 체중변화는 나타나지 않았으나 지방감소와 근육량 증가 효과가 있음을 확인하였다(도 4b).

[0046] 실시예 8: 혈액지표 분석

[0047] 본 발명의 일 실시예에 따라 탈지미세조류 및 카제인 혼합 투여군(L10C5), 대조군(C15)의 overnight 절식을 통해 공복시의 혈액을 채취하여 탈지미세조류 급여에 따른 혈액지표(Glucose, HDLC, TC 및 TG) 분석을 수행하였다. 혈액의 포도당 농도 측정은 혈당측정기를 이용하여 측정하였으며 혈청 내 중성지방, 총 콜레스테롤, HDL측정은 채취한 혈액을 원심분리하여 얻은 혈장을 Elisa kit를 이용하여 분석하였고, LDL-콜레스테롤의 농도는 혈액 자동분석기를 이용하여 분석하였다.

[0048] 그 결과, 대조군과 비교하여 탈지미세조류 및 카제인 혼합 투여군(L10C5)에서 혈당이 감소하고 중성지방과 콜레스테롤이 감소하는 효과를 확인하였으므로 성인병 예방에 긍정적인 효과를 나타낼 것으로 사료된다(도 5).

[0049] 실시예 9: 면역능 실험

[0050] 본 발명의 탈지미세조류 단백질을 마우스에 급여 후 면역세포의 일종인 CD8+ T세포의 발현을 측정하였다. 구체적으로, 실험은 대조군(C15)과 실험군(L10C5)으로 분류하였다. CD8+ T세포의 발현 측정은 Flow cytometry를 이용한 방법으로 마우스의 비장을 적출하여 5% RPMI 배지와 hemolytic buffer를 이용해 적혈구와 백혈구를 제거한 후 CD8항체와 반응하여 T-cytotoxic cell을 생성하도록 하여 Simultest™ Flowcytometry(Becton Dickinson, U.S.A.)를 사용하여 분석하였다.

[0051] 그 결과, 탈지미세조류를 급여한 실험군(L10C5)에서 CD8+ T세포의 발현이 현저히 높은 것으로 나타났다(도 6). 따라서 상기 결과를 정리하면 탈지미세조류를 급여함에 따라 체중증가에는 유의한 변화가 없었으며 항비만 효과의 지표인 지방량 감소와 근육량 증가에 유의한 효과가 있었다. 특히, 혈액의 혈당, 중성지방, 콜레스테롤 수치 또한 감소하였으므로 탈지미세조류 급여가 항비만, 순환계 질환예방 및 성인병 예방에 효과가 있는 것으로 사료된다. 본 발명의 탈지미세조류 급여에 따른 종합적 효과를 하기 표 4에 요약하였다.

표 4

탈지미세조류 급여에 따른 체중 및 생리적 지표 변화

		체중	식이효율	지방	근육	혈당	중성지방	면역
대조군	C15							
탈지미세조류 10%	L10C5	●	▼	▼	▲	▼	▼	▲

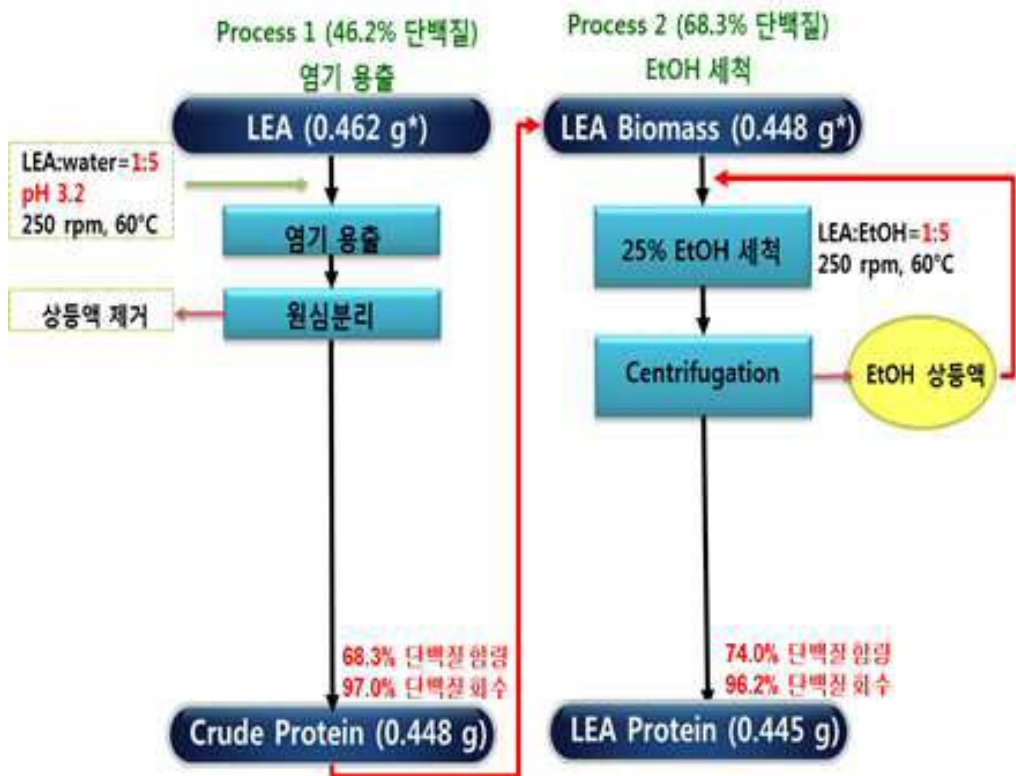
[0053] * (▲): 증가효과; (●): 효과없음; (▼): 감소효과

[0054] 결론적으로 본 발명의 탈지미세조류 유래 단백질 고함량화 사료는 바이오디젤 생산 부산물인 탈지미세조류로부터 미세조류 단백질을 선택적으로 추출하는 공정을 통해 면역력 증가, 혈당감소, 콜레스테롤 감소 효과 및 특히 항비만 효과가 증진되어 어류 또는 동물의 사료용 조성물로 활용가능하다.

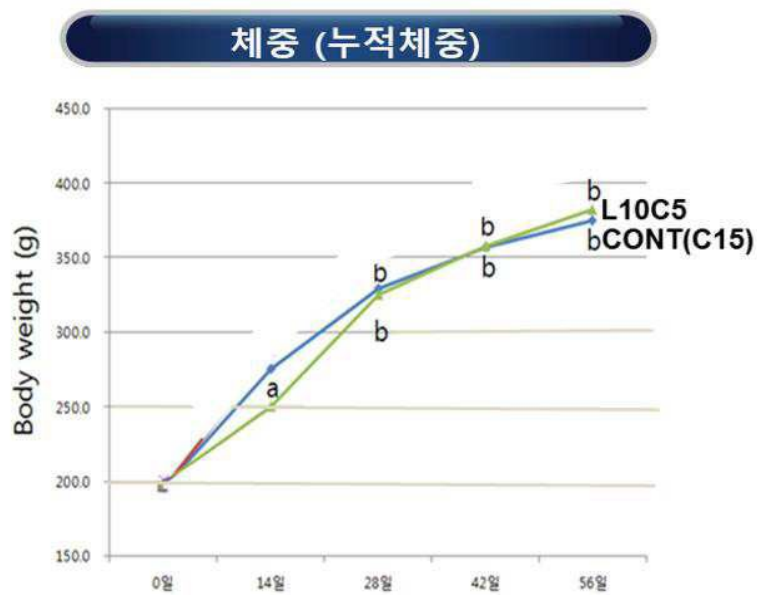
[0055] 본 발명은 상술한 실시예를 참고로 설명되었으나 이는 예시적인 것에 불과하며, 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 이로부터 다양한 변형 및 균등한 다른 실시예가 가능하다는 점을 이해할 것이다. 따라서 본 발명의 진정한 기술적 보호 범위는 첨부된 특허청구범위의 기술적 사상에 의하여 정해져야 할 것이다.

도면

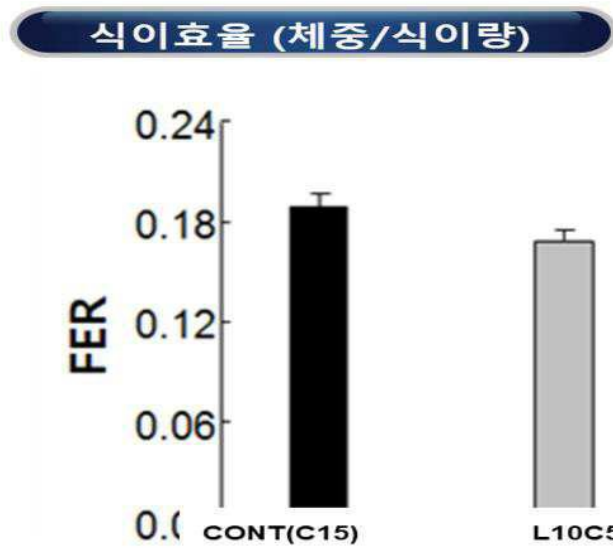
도면1



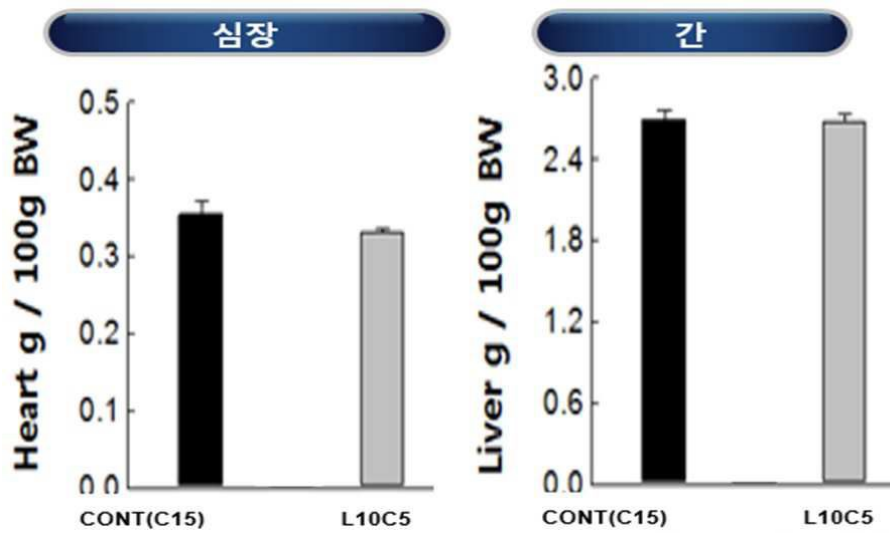
도면2



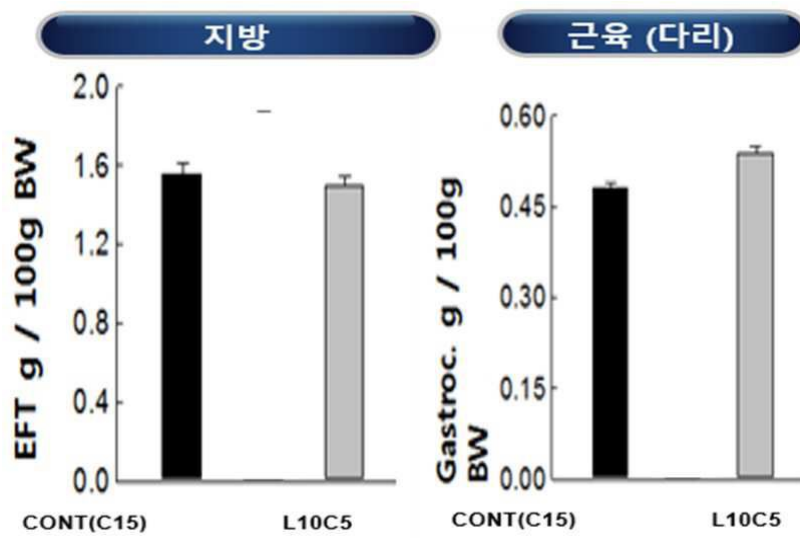
도면3



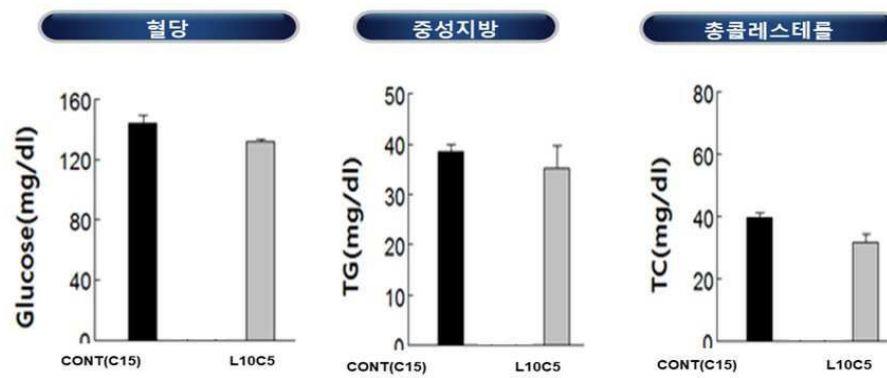
도면4a



도면4b



도면5



도면6

