(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2008-0044100
(43) 공개일자 2008년05월20일

(51) Int. Cl.
A23K 1/00 (2006.01) *A23K 1/06* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2006-0112961
(22) 출원일자 2006년11월15일
심사청구일자 2006년11월15일

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울 성북구 안암동5가1 고려대학교 내
(72) 발명자
김영준
서울시 강남구 도곡동 역삼한신아파트 1동 502호
최낙진
서울시 광진구 자양동 810 자양힐아파트 602호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
손민

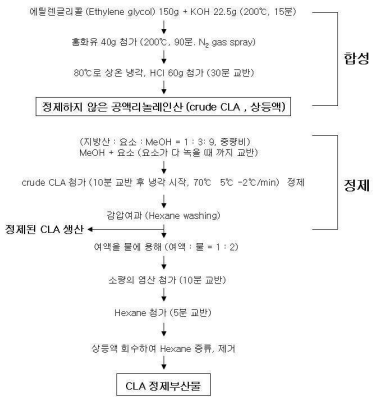
전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 공액리놀레인산 정제부산물 함유 동물 사료조성물

(57) 요 약

본 발명은 항비만, 동맥경화예방, 항암에 효과가 있는 가축의 축산물을 생산하기 위해, 식품 및 사료산업에서 활용되지 못하고 전량 폐기되었던 고도불포화 지방산인 공액리놀레인산의 정제부산물을 유효성분으로 함유하는 동물 사료조성물에 관한 것이다. 본 발명의 공액리놀레인산 정제부산물 함유 사료조성물을 이용하여 저비용으로 고도불포화지방산을 유효성분으로 함유하는 가축 및 가축 유래 축산물을 효율적으로 생산할 수 있게 됨으로써, 저렴한 가격으로 각종 성인질환 예방 및 체내 기능 성분의 축적과 이로 인한 체내 생리활성증진을 통한 소비자의 건강증대에 유효할 것이다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

김준호

충남 연기군 조치원읍 서창리 그린하우스 103호

박희규

충남 연기군 조치원읍 서창리 154-6 호연오피스텔 301호

김재훈

경기도 부천시 원미구 중3동 덕유마을 232-403

송만강

충북 청주시 흥덕구 가경동 762 벽산아파트 106-1301호

손성훈

경기도 수원시 영통구 영통동 황골마을 쌍용아파트 245-901호

특허청구의 범위

청구항 1

공액리놀레인산 정제부산물을 유효성분으로 함유하는 동물 사료조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 조성물은 공액리놀레인산 정제부산물을 총 조성물 100 중량부에 대해 0.02~10 중량부로 포함하는 동물 사료조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 조성물은 식이 보조제, 식품 첨가물 및/또는 사료첨가제를 더 포함하는 동물 사료조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 공액리놀레인산 정제부산물이 공액리놀레인산을 정제 분리하고 남은 여액에 헥산을 첨가 및 제거한 후 수득되는 것을 특징으로 하는 동물 사료조성물.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 동물은 소, 말, 노새, 당나귀, 염소, 산양, 면양, 사슴, 돼지, 토끼, 개 및 가금류로 구성된 군에서 선택된 어느 하나인 동물 사료조성물.

청구항 6

제5항에 있어서, 가금류는 닭, 칠면조, 오리, 타조, 거위 또는 메추리인 동물 사료조성물.

청구항 7

제1항의 사료조성물을 이용하여 고도불포화지방산 함량이 증가된 축산물을 얻는 방법.

청구항 8

제7항에 있어서, 축산물은 고기, 젖 또는 알인 방법.

청구항 9

(a) 공액리놀레인산을 제조하여 정제·분리하고 남은 여액을 물에 용해시킨 후, 염산과 헥산을 첨가하여 반응시키는 단계; 및 (b) 상기 반응액에서 상등액을 회수하여 헥산을 제거하는 단계를 포함하는 공액리놀레인산 정제부산물의 제조방법.

청구항 10

제9항에 있어서, (e) 단계의 잔류 여액을 물에 용해시키는 것은 여액 : 물의 중량비가 1 : 2인 방법.

명 세 서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

<7> 본 발명은 고도불포화 지방산인 공액리놀레인산 정제부산물을 유효성분으로 함유하는 동물 사료조성물에 관한 것이다.

<8> 최근, 현대인의 소득향상과 식이 (食餌)의 변화에 따른 각종 성인성 질환이 급증하고 있으며, 그 중 혈관계 질환과 암 등이 현대인의 건강을 위협하는 요인으로 인식되고 있다. 이들 질환과 관련하여 여러 기능성 원료에 대

한 동정 및 다양한 연구가 활발히 진행되어 왔으며, 그 결과 인체에 유용한 다양한 기능성 원료가 개발되었고, 이러한 성분들을 함유한 다양한 기능성 식품들이 상품화되고 있는 추세이다.

<9> 그 중 탄소수 18개 이상으로 이루어진 고도불포화 지방산인 공액리놀레인산은 동물실험에서 동맥경화 억제, 면역강화, 항암 등에 대한 방어기작에 관여하는 것으로 밝혀져 있으며, 식품의 3차 기능, 즉 생리활성 강화소재로서도 활발한 연구가 진행되고 있으나 (Ha, Y. L. 등 1990, *Cancer Res.* 50:1097; Belury, M. A. 등 1996, *Nutr. Cancer* 26:149; Ip, C. 등 1991, *Cancer Res.* 50:6118; Liew, C. 등 1996, *Carcinogenesis* 16:3037), 상기와 같이 다양한 성인성 질환에 대한 보호효과가 보고되어 있음에도 안정성 증대 및 효과적인 체내 축적도의 증대방안에 대한 연구는 전무한 실정이었다. 반면, 이중결합이 3개 이상으로 구성된 오메가-3 계열 지방산의 효과는 다양한 연구를 통해 이미 체내 안정성 및 증대된 안정성이 입증된 바 있다. 오메가-3 계열의 고도불포화 지방산은 주로 어류의 육질에 함유되어 있는 것으로 밝혀져 있으며, 포화지방산 함량이 높은 육류를 주식으로 하는 서구사회에 큰 관심사로 등장하게 되어 활발한 연구가 진행되고 있는 실정이다.

<10> 가금류 (poultry)는 체내 지방산대사에 의한 지방산의 변형이 비교적 적은 축종 (畜種)으로서 리놀레인산 (linoleic acid), 리놀레닌산 (linolenic acid)외에 생물체에서 타입 3의 PG (prostagladin) 및 타입 5의 류코트리엔의 전구물질 (前驅物質)이 되는 EPA (eicosapentaenoic acid)와 물고기 기름 속에 존재하는 오메가-3-지방산인 DHA (docosahexaenoic acid) 등 오메가-3 계열의 고도불포화 지방산의 축적효율이 높은 것으로 알려져 있다.

<11> 종래에는 지방산을 식이 첨가 형태로 이용하여 가축, 특히 가금류와 가금류 유래 축산물 (畜産物, stock farm products)내에 기능성 고도불포화지방산을 축적 및 강화시키기 위한 많은 연구들이 있었다. 이러한 종래기술들은 고순도로 정제한 지방산을 원료로 사용하기 때문에, 원료 정제시 막대한 비용이 필요하고, 오일 정제시 생산되는 부산물 역시 다량의 기능성 지방산을 포함하고 있음에도 이의 분리정제에 대한 연구나 활용방안의 모색 없이 전량 폐기처분함으로써 그 이용 가치를 활용하지 못했다. 또한, 정제 부산물의 폐기처분 비용 또한 소요되었다.

<12> 또한, 고순도로 정제한 지방산의 형태가 유리지방산 (free fatty acid) 형태일 경우 동물 체내에서 지방이 흡수되기 위한 글리세린의 지방산 에스테르인 트리글리세리드 (triglyceride) 형태로의 전환 속도가 느리기 때문에 사료첨가 급여 시 단시간에 가금류 유래 축산물 내 기능 성분이 축적되는 효과를 얻지 못하였으며, 그 축적률 또한 높지 못하였다. 뿐만 아니라, 공액리놀레인산의 동물 사료첨가 급여는 동물의 사료 섭취량을 떨어뜨려 가금류 유래 축산물의 생산성 및 축산물의 품질을 저하시키는 등의 문제점들이 있었다.

<13> 이에, 본 발명자들은 저렴한 가격으로 축산물 내에 기능성 고도불포화지방산을 축적 및 강화시키기 위한 사료조성물을 개발하기 위해 예의 노력하였으며, 그 결과 전량 폐기되었던 공액리놀레인산 정제부산물에 에스테르화된 공액리놀레인산이 다량 함유되어 있음을 발견하고, 이를 가축의 사료조성물로 응용함으로써 가금육 또는 가금류 유래 축산물의 생산성과 품질의 저하 없이 빠르고 효율적으로 공액리놀레인산이 강화된 기능성 축산물을 얻을 수 있음을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

<14> 본 발명의 목적은 공액리놀레인산 정제부산물을 유효성분으로 함유하는 동물 사료조성물을 제공하는데 있다.

<15> 본 발명의 다른 목적은, 본 발명의 사료조성물로 육종되어 항비만, 동맥경화예방, 항암에 효과가 있는 가축의 축산물을 제공하는데 있다.

<16> 본 발명의 또 다른 목적은, 공액리놀레인산 정제부산물의 제조방법을 제공하는데 있다.

발명의 구성 및 작용

<17> 일 양태로, 본 발명은 공액리놀레인산 (Conjugate Linoleic Acid, CLA) 정제부산물을 유효성분으로 함유하는 동물 사료조성물을 제공한다. 구체적으로는, 본 발명의 동물 사료조성물은 총 조성물 100 중량부에 대해 0.01~25 중량부, 바람직하게는 0.02~10 중량부의 공액리놀레인산 정제부산물을 포함할 수 있다.

<18> 본 발명의 용어 "공액리놀레인산 정제부산물"은 공지의 공액리놀레인산 합성 방법에 의해 합성된 정제하지 않은 공액리놀레인산 (crude CLA)로부터 공액리놀레인산을 정제한 다음, 여액으로부터 회수한 것을 의미하며, 이에는 에스테르화된 공액리놀레인산이 다량 함유되어 있다.

<19> 본 발명의 실시예에서는, 공액리놀레인산 정제부산물의 효율적인 제조방법과 안정성을 규명하였으며, 또한 가금

육 또는 가금류 유래 축산물의 생산성과 품질을 떨어뜨리지 않는 범위 내에서 효율적으로 생리활성을 가진 공액리놀레인산의 기능성을 부여함으로써 공액리놀레인산이 강화된 축산물을 제조할 수 있음을 확인하였다. 따라서, 일 양태로, 본 발명은 상기 본 발명의 사료조성물로 육종되어 항비만, 동맥경화예방, 항암에 효과가 있는 가축의 축산물을 제공한다.

<20> 본 발명에서의 동물은 축산법 제2조 제1호 및 동법 시행규칙 제2조 각호에서 정의하고 있는, 야생습성이 순화되어 사육하기에 적합하며 농가의 소득증대에 기여할 수 있는 가축일 수 있다. 상기 가축에는 소, 말, 노새, 당나귀, 염소, 산양, 면양, 사슴, 돼지, 토끼, 개, 가금류 등 일수 있으며, 가금류에는 닭, 칠면조, 오리, 타조, 거위, 메추리 등, 바람직하게는 닭 일수 있으나, 사육하여 축산물을 얻기에 적합한 것이라면 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 "축산물"은 축산법 제2조 3호의 정의인, 가축에서 생산된 고기, 젖, 알, 꿀과 이들의 가공품, 원피 (원모피를 포함한다), 원모, 기타 가축의 생산물로서 농림부령이 정하는 것을 의미한다.

<21> 후술하는 실시예에서 자세히 기술한 바와 같이, 본 발명의 사료조성물은 열안정성 및 산화적 안정성이 높고, 기능성 고도불포화지방산의 에스테르화 정도가 높아 사료조성물로서 적합하며, 이를 가축의 식이 급식하였을 경우 가축의 생체 내에 콜레스테롤 수치에는 변화가 없으면서도 고도불포화지방산이 높은 효율로 축적되게 된다.

<22> 따라서, 일 양태로, 본 발명은 본 발명의 사료조성물을 식이 섭취하여 항비만, 동맥경화예방, 항암효과를 가지는 가축의 축산물을 제공한다. 구체적인 일 양태로, 본 발명의 축산물은 본 발명의 공액리놀레인산 정제부산물을 유효성분으로 함유하는 사료조성물로 육종된 가축으로부터 산출된 고기, 젖, 알일 수있으나, 가축으로부터 산출된 것으로서 축산법 제2조 3호의 축산물에 해당하는 것이라면 이에 제한되는 것은 아니다.

<23> 본 발명의 용어 "사료"는 동물이 먹고, 섭취하며, 소화시키기 위한 또는 이에 적당한 임의의 천연 또는 인공 규정식, 한끼식 등 또는 상기 한끼식의 성분을 의미한다. 일 양태로, 본 발명의 공액리놀레인산 정제부산물을 유효성분으로 함유하는 사료용 조성물에는 농후사료, 조사료 및/또는 특수사료가 포함될 수 있다.

<24> 농후사료에는 밀, 귀리, 옥수수 등의 곡류를 포함하는 종자열매류, 곡물을 정제하고 얻는 부산물로서 쌀겨, 밀기울, 보릿겨 등을 포함하는 겨류, 콩, 유체, 깨, 아마인, 코코야자 등을 채유하고 얻는 부산물인 깻묵류와 고구마, 감자 등에서 녹말을 뺀 나머지인 녹말찌꺼기의 주성분인 잔존녹말질류 등의 찌꺼기류, 어분, 물고기찌꺼기, 어류에서 얻은 신선한 액상물(液狀物)을 농축시킨 것인 피시솔루블 (fish soluble), 육분(肉粉), 혈분, 우모분, 탈지분유, 우유에서 치즈, 탈지유에서 카제인을 제조할 때의 잔액인 훼이(whey)를 건조한 건조훼이 등의 동물질사료, 효모, 클로렐라, 해조류 등이 있다.

<25> 조사료에는 야초, 목초, 풋베기 등의 생초(生草)사료, 사료용 순무, 사료용 비트, 순무의 일종인 루터베어거 등의 뿌리채소류, 생초, 풋베기작물, 곡실(穀實)등을 사일로에 채워 놓고 젖산발효시킨 저장사료인 사일리지(silage), 야초, 목초를 베어 건조시킨 건초, 종축용(種畜用) 작물의 짚, 콩과 식물의 나뭇잎 등이 있다. 특수사료에는 굴껍데기, 암염 등의 미네랄 사료, 요소나 그 유도체인 디우레이드이소부탄 등의 요소사료, 천연사료 원료만을 배합했을 때 부족하기 쉬운 성분을 보충하거나, 사료의 저장성을 높이기 위해서 배합사료에 미량으로 첨가하는 물질인 사료첨가물 등이 있다.

<26> 구체적인 일 양태로서, 본 발명은 곡물류인 옥수수, 대두박 (soybean meal), 옥수수 전분제조 과정에서 생산되는 부산물인 콘글루텐밀 (corn gluten meal), 비타민 복합체, 석회암(limestone) 등과 공액리놀레인산 정제부산물을 함유하는 동물사료조성물을 제공한다. 또한, 본 발명의 동물 사료조성물은 식이 보조제, 식품 첨가제 또는 사료 첨가제를 더 포함할 수 있다.

<27> "식이 보조제"는, 예를 들어 치료제 또는 소화제를 동물에 제공하는 제제 함유 조성물로, 통상 생체의 열량 섭취 공급원, 즉 에너지 공급원은 아니지만, 통상의 동물 사료에 추가하여 섭취되는 조성물을 의미한다. 또한, "식품첨가물"은 외관, 향미, 조직 또는 저장성을 향상시키기 위한 목적으로 보통 적은 양이 식품에 의도적으로 첨가되는 것을 가리키며, 식품의 품질을 개량하여, 보존성 또는 기호성을 향상시킬 뿐 아니라 영양가 및 식품의 실질적인 가치를 증진시킬 목적으로 사용하는 것을 의미한다. 이는, 식품위생법 제2조 제2호에서 정의하고 있는 바와 같이, 식품을 제조가공 또는 보존함에 있어 식품에 첨가, 혼합, 침윤, 기타의 방법으로 사용되는 물질일 수 있다. 또한, "사료첨가제"란 영양소 보충 및 체중감소 예방, 사료 내 섬유소의 소화 이용성 증진, 유질 개선, 번식장애 예방 및 수태율 향상, 하절기 고온 스트레스 예방 등 다양한 효과를 목적으로 사료에 첨가하는 물질을 말한다. 본 발명의 사료첨가제에는 사료관리법상의 보조사료에 해당하며, 탄산수소나트륨(중조), 벤토나이트 (bentonite), 산화마그네슘, 복합광물질 등의 광물질제제, 아연, 구리, 코발트, 셀레늄 등의 미량 광물질인 미네랄제제, 케로틴, 비타민 E, 비타민 A, D, E, 니코틴산, 비타민 B 복합체 등의 비타민제, 메티오닌, 리이

산 등의 보호아미노산제, 지방산 칼슘염 등의 보호지방산제, 생균제(유산균제), 효모배양물, 곰팡이 발효물 등의 생균, 효모제 일 수 있다.

<28> 본 발명의 사료조성물에 포함되는 공액리놀레인산 정제부산물은 공액리놀레인산 (crude CLA)을 합성한 후 공액리놀레인산을 정제하고 남은 여액으로부터 회수할 수 있다. 구체적으로는, 후술하는 실시예 1에 자세히 기술한 바와 같이, 에틸렌 글리콜과 KOH를 반응시킨 다음, 이에 홍화유를 첨가하여 추가로 반응시켜 공액리놀레인산 (crude CLA)을 제조하고, 이에 헥산을 첨가 및 제거하는 방법으로 회수한 다음, 요소 포접화에 의한 정제 및 탈색 공정을 거쳐 공액리놀레인산을 정제하였으며, 정제 공랙리놀레인산을 분리하고 남은 여액을 물에 녹인 다음, 이에 헥산을 첨가 및 제거하여 공액리놀레인산 정제부산물을 생산하였다. 공액리놀레인산의 정제방법은 상기 방법 외에 당업계에 공지된 부가공정이나 변형공정을 포함하여 수정 가능하며, 본 발명은 그와 같은 정제 공액리놀레인산을 분리하고 남은 여액으로부터 공액리놀레인산의 정제부산물을 얻고, 이를 이용하는 것을 특징으로 한다. 상기 요접포접화는 합성한 공액리놀레인산 : 요소 : MeOH의 중량비가 1 : 3 : 9가 바람직하며, 잔류 여액을 물에 용해시키는 것은 여액 : 물의 중량비가 1 : 2인 것이 바람직하다.

<29> 이하, 하기 실시예에 의해 본 발명을 좀더 구체적으로 설명한다. 그러나, 이들 실시예는 단지 본 발명의 예시에 불과하며 이로써 본 발명이 제한되지는 않는다.

<30> 〈실시예 1〉 공액리놀레인산 (CLA) 정제부산물의 제조

<31> 실시예 1-1: 공액리놀레인산 (crude CLA)의 합성 및 정제

<32> 본 발명의 공액리놀레인산 (conjugated linoleic acid, 이하 "CLA"라 약칭함) 정제부산물은 다음과 같은 방법으로 제조하였다. 먼저, 에틸렌 글리콜 (ethylene glycol) 150 g과 KOH 22.5 g을 200 ℃에서 15 분 반응시킨 후, 상기 반응액에 홍화유 40 g 을 첨가하여 200℃에서 90 분간 교반반응을 수행함으로써 공액리놀레인산 (crude CLA)를 제조하였다. 이때, 홍화유를 첨가하는 단계로부터 반응시키는 동안 질소가스를 반응물에 천천히 흘려주어 지방산의 공기에 의한 산패 (rancidity)가 일어나지 않도록 하였다. 이 후, 상온에서 반응물을 80 ℃ 까지 냉각시킨 후, HCl 60 g을 첨가하여 30 분간 교반반응을 더 수행한 다음, 분리된 CLA 층을 회수하였다. CLA층 회수 시, 층 분리 현상이 확연하게 나타나게 하기 위해서 소량의 헥산 (hexane)을 첨가하였다. 회수한 crude CLA에 포함된 헥산은 질소농축 방법으로 모두 증발시켰다.

<33> 실시예 1-2: CLA 정제부산물의 회수

<34> 하기의 요소 포접화에 의한 정제, 탈색 공정을 거쳐 실시예 1-1의 방법에 의해 제조 및 회수한 crude CLA로부터 CLA 정제부산물을 회수하였다. 본 실시예에서 사용한 crude CLA : 요소 : MeOH의 중량비를 1 : 3 : 9로 사용하는 것이 가장 효과적이었다.

<35> 먼저, 온도를 70℃로 일정하게 유지시킨 이중 자켓 반응조 (Double Jacketed Reactor)에 MeOH과 요소 (urea, $CO(NH_2)_2$)를 첨가한 다음, 요소가 모두 녹아 반응물의 색이 맑아질 때까지 교반반응을 수행하였다. 이 후, 실시예 1-1의 방법에 의해 제조 및 회수한 crude CLA를 상기 반응액에 첨가하여 10 분간 추가로 교반반응을 수행한 다음, 이를 70℃에서 5℃까지 0.2 ℃/min으로 냉각시켰다. 반응액의 냉각을 완료한 다음, 요소에 포접되어 (included) 결정화된 반응물을 헥산으로 세척하면서 감압여과시켰다. 정제된 CLA (purified CLA)를 얻기 위해 상기 감압여과된 결정화물을 사용하였다. 잔류 여액을 여액 : 물 = 1 : 2의 비율로 물에 용해시킨 다음, 이에, 소량의 염산 (HCl)을 첨가하여 10 분간 교반반응을 수행하였다. 상기 반응액에 헥산을 첨가하여 다시 5 분간 교반반응을 수행하였다. 이로부터 상등액을 회수한 다음, 헥산을 증류하여 제거하였으며, 가축의 사료조성물로 사용하기 위하여 잔류 CLA 정제부산물을 수득하였다 (도 1).

<36> 상기 결과로부터, 식품 및 사료산업에서 활용되지 못했던 공액리놀레인산 정제부산물의 효율적 제조방법을 제시하였다.

<37> 〈실시예 2〉 4종류 지방산의 안정성 분석

<38> 실시예 2-1: 열안정성 분석

<39> 본 발명에 사용한 4종류의 지방산 (CLA, CLA 정제부산물, 리놀레인산 (Linoleic acid), 리놀레인산 정제부산물)의 열안정성은 하기의 방법으로 검증하였다.

<40> 상대적 열안정성 정도를 확인하기 위하여, 상기 4종류의 지방산을 95 ℃ 오븐 (oven)에서 96 시간 동안 열처리하면서 각 시간대 별로 시료 (sample)을 채취하였으며, 이를 기체크로마토그래피 (Gas Chromatography, 이하

"GC"로 약칭함)로 분석하여 각 지방산 함량의 변화를 비교하였다.

<41> 96시간 동안 상기 4종류의 지방산의 농도변화를 관찰한 결과, 도 2에서 나타낸 바와 같이, CLA는 26.47 %, 리놀레인산은 30.08 % 소멸하였으나, CLA 정제부산물은 2.07 %, 리놀레인산 정제부산물은 15.62 % 소멸하였다. 상기 결과로부터 정제된 CLA와 리놀레인산에 비하여 각각의 정제부산물이 상대적으로 높은 열안정성을 갖는다는 것을 확인하였다 (도 2).

<42> 실시예 2-2: 과산화물가 측정 (peroxide value, POV test)

<43> 과산화물가 측정 결과는 지방산의 안정성 및 산화적 손상에 대한 하나의 지표로서 사용될 수 있는데, POV test는 지방산에 존재하는 과산화물의 함량은 분광광도기법 (Raghavan, S. and Hultin, H.O., *J. Agric. Food Chem.*, 53:4572-4577, 2005)에 따라 측정하였다. POV가 클수록 독성이 강하나, hydoperoxide의 함량이 자동산화 (autoxidation)의 진행에 따라 최고치(the maximum value)에 도달한 후 감소하기 때문에 도 3의 24시간 이후 결과와 같이, 산패가 발생한 지 오래된, 즉 과도하게 자동산화가 진행된 시료의 과산화물가는 의외로 낮게 나올 수 있다.

<44> POV 측정결과, CLA의 과산화물가는 95℃에서 12시간과 24시간 사이에 최고점에 도달하였고, CLA 정제부산물 또한 시간대별 경향은 같았으나, CLA에 비해 상대적으로 그 변화 값이 적었다. 또한, 리놀레인산 정제부산물도 리놀레인산에 비해 POV 상승 값이 크지 않았다 (도 3). 상기 결과로부터 본 발명의 공액리놀레인산 정제부산물이 정제된 공액리놀레인산과 비교하여 산화적 손상에도 보다 안정함을 확인할 수 있었다.

<45> 〈실시예 3〉 기능성 고도불포화지방산의 에스테르화 정도

<46> 본 발명에 사용한 4종류의 기능성 고도불포화지방산 (highly poly-unsaturated fatty acids) (CLA, CLA 정제부산물, 리놀레인산 (Linoleic acid), 리놀레인산 정제부산물)의 에스테르화 (esterification) 정도는 하기의 방법으로 확인하였다.

<47> 각 지방산 80 ul를 헥산 0.7 ml로 희석한 용액을 수분이 제거된 TLC 플레이트 (silica gel)에 일정 크기의 점으로 찍은 후 헥산 (hexane) : 디에틸에테르 (diethylether) : 메탄올 (methanol) : 아세트산 (acetic acid) (80 : 15 : 3 : 2, v/v) 전개용매를 사용하여 TLC 수조 내에서 플레이트에 전개용매를 흡수시켰다. 일정시간 후 플레이트를 꺼내 완전하게 말린 다음, 10% Molybdatophosphoric acid (MPA)를 플레이트 위에 골고루 분사하였다. 이 후 플레이트에 약간의 열을 가하여 각 지방산의 글리세린 (glyceride) 분포도를 띠로 확인하였다 (도 4).

<48> 상기 결과로부터 오일 부산물 내에 주로 분포된 CLA의 형태는 에스테르화된 형태 (esterified form)이고, 정제된 오일 내에 주로 분포된 CLA의 형태는 유리지방산 형태 (free fatty acid form)임을 확인하였다. 지방산의 에스테르화된 형태는 유리지방산 형태에 비해 장내 흡수가 더 쉽게 되고, 빠르게 미셀 (micelle) 구조를 형성할 수 있으므로, 이를 동물의 사료로 식이 급여할 경우 더 효과적인 체내 축적율을 나타낼 수 있다. 상기 결과로부터 본 발명의 CLA 정제부산물을 가축의 사료조성물로 사용할 수 있음을 확인할 수 있었다.

<49> 〈실시예 4〉 CLA 정제부산물 함유 사료조성물의 제조

<50> 본 발명에 의한 공액리놀레인산 강화를 위한 정제부산물 함유 사료조성물의 조성은 하기의 표와 같다.

표 1

<51>

	Control	CLA정제부산물	CLA
성분 (*Ingredient (%)*)			
옥수수 (Corn)	57.0	53.0	53.0
대두박 (Soybean meal)	18.0	18.0	18.0
콘글루텐밀 (Corn gluten meal)	5.0	5.0	5.0
밀기울	9.7	11.7	11.7
Salt	0.3	0.3	0.3
석회암 (Limestone)	7.5	7.5	7.5
Vitamin-Premix[1]	0.5	0.5	0.5
L-Lysine	0.5	0.5	0.5
Methionine	0.5	0.5	0.5
Bicalcium phosphate	1.0	1.0	1.0

유지부산물 (Oil byproduct)	-	2.0	-
CLA oil	-	-	2.0
화학 조성물 (*Chemical composition (%)*)			
Dry matter			
Ash	9.13	8.08	8.00
Crude protein	14.46	14.76	14.62
Ether extract			
Crude fiber	3.35	3.66	3.31
Calcium			
Phosphate			
ME (Kcal/kg)	3,456	3,622	3,609

<52> 상기 표에서 위첨자 [1]의 사료 Kg 당 제공되는 조성물은 다음과 같다: 비타민 A, 5,500 IU; 비타민 D_3, 1,100 IU; 비타민 E, 11 IU; 비타민 B_{12}, 0.0066 mg; 리보플라빈 (riboflavin), 4.4 mg; 니아신 (niacin), 44 mg; 판토테닉산 (pantothenic acid), 11 mg; 칼슘-판토테닉산 (Ca-pantothenate), 11.96 mg; 콜린 (choline), 190.96 mg; 염화콜린 (choline chloride), 220 mg; 메나디온 (menadione), 1.1 mg 메나디온-산성아황산나트륨 염 (menadione sodium bisulfite complex), 3.33 mg; ㅇ엽산 (folic acid), 0.55 mg; 피리독신 (pyridoxine), 2.2 mg; 피리독신 염화수소산염 (pyridoxine hydrochloride), 2.67 mg; 비오틴 (biotin), 0.11 mg; 티아민 (thiamin), 2.2 mg; 티아민 질산염 (thiamine mononitrate), 2.40 mg; 에톡시퀸 (ethoxyquin), 125 mg; Cu, 30; Zn, 60; Mn, 90; Co, 0.25; I, 1.2.

<53> 〈실시예 5〉 난황 내 기능성 고도불포화지방산의 축적도 비교

<54> 본 발명의 CLA 정제부산물을 동물의 사료로 식이 급여한 다음, 난황 내 기능성 고도불포화지방산의 축적 정도를 하기의 방법으로 확인하였다.

<55> 실시예 4-1. 난황 내 지방의 추출

<56> 일반 산란계 사료를 이용하는 control 그룹과 기능성 고도불포화지방산(CLA, CLA 정제부산물)이 첨가된 (각 2 %) 산란계 사료를 이용하는 2개의 그룹으로 48 마리의 산란계 (백색레그혼종, white leghon)를 나누어 같은 조건 하에서 5주 동안 육종 (feeding) 실험을 하였다. 실험기간 동안 각 그룹별 사료섭취량과 산란속도 (egg produntion rate), 계란 품질 (egg quality)을 측정하였으며, 매일 회수한 계란시료 (egg sample)에서 난황만을 분리해 -20℃에서 보관하였다. 시간대별 난황 내 기능성 고도불포화지방산의 축적도를 비교하기 위하여 Hexane : Isopropanol (3:2, v/v) 용매를 이용하여 주 단위로 수집한 난황 시료로부터 지방만을 추출하였다.

<57> 실시예 4-2. 추출한 지방의 메틸 에스테르화

<58> 추출한 지방은 하기와 같은 방법으로 메틸 에스테르화 (methyl esterification)을 수행하였다.

<59> 먼저, 톨루엔 (toluene)과 5% KOH를 난황 시료로부터 지방만을 추출한 시료에 첨가하여 70℃에서 8분 반응시킨 후 이를 냉각하였으며, 이를 14 % BF3 (3불화붕소, boron trifluoride)를 첨가하여 같은 온도에서 8분 동안 반응시킨 후 냉각하였다. 이 후, 포화 NaCl과 헥산을 첨가하여 메틸 에스테르화된 지방산을 헥산으로 회수한 후 이를 GC로 분석하였다. 객관적 분석을 위하여, 모든 실험은 3회 반복 실행하였으며, 난황 g당 지방의 회수율 계산을 위하여 내부표준물질 (internal standard)로써 말가릭산 (Margaric acid, Heptadecanoic acid)를 사용하였다.

<60> 상기 방법으로 난황 내 기능성 고도불포화지방산의 축적 정도와 계란의 품질을 확인한 결과, CLA 정제부산물을 함유한 사료조성물을 식이 급여한 그룹이 정제된 CLA (CLA 80 %)를 함유한 사료조성물을 급여한 그룹에 비해 5주의 육종 실험기간 동안 난황 내 CLA 함량이 유의적으로 높게 축적됨이 확인되었다. 또한, 정제된 CLA 첨가 그룹에서는 난황 내 CLA 축적이 사료급여 3주 후부터 관찰된 데 반해, CLA 정제부산물 첨가 그룹에서는 사료급여 1주 후부터 5% 이상의 높은 축적율을 보였다 (도 5).

<61> 표 2는 공액리놀레인산 정제부산물 함유 사료조성물의 산란계 식이 급여가 계란의 품질변화에 미치는 영향을 확인한 결과이다. 상기 결과로부터 공액리놀레인산 정제부산물 함유 사료조성물을 급여 한 그룹의 경우, 일반 사료를 급여한 그룹에서의 계란의 품질과 유의적인 차이를 나타내지 않음을 확인할 수 있었다 (표 2).

표 2

<62>

품질 파라미터 (Quality parameters)	식이군 (Dietary groups)			SEM	*p*-value
	대조군(control)	CLA정제부산물	CLA		
사료 섭취량 (Feed intake (g/d))	102.333	100.628	99.611	11.544	0.4053
산란율 (Laying rate(%))	82.13	82.74	79.12	14.439	0.4232
계란 무게 (Egg Weight (g/egg))	62.52^{ab}	61.99^{b}	64.12^{a}	3.292	0.0487
계란껍질강도 (Eggshell Strength (g/m^2))	2844.5	2906.3	2600.0	750.9	0.3531
계란껍질두께 (Eggshell thickness (mm))	0.411	0.416	0.393	0.061	0.3067
난황 색 (Egg Yolk Color)	8.929	8.971	8.757	0.821	0.3417
호우단위(Haugh unit)	85.68^{a}	81.16^{b}	80.14^{b}	7.978	0.0109
난황 높이 (Egg Yolk Height(mm))	18.63^{a}	18.53^{a}	18.22^{ab}	1.060	0.0341
난황 직경 (Egg Yolk Diameter(mm))	43.13^{a}	42.10^{b}	43.59^{a}	1.541	0.0010
난황 지표 (Egg Yolk Index)	0.433^{ab}	0.441^{a}	0.419^{b}	0.033	0.0123

<63> 상기 표에서 동일 줄 내의 다른 윗첨자들인 ^{a,b,c,d}는 유의적인 차이를 나타내는 것을 의미한다. ($p<0.05$)

<64> 〈실시예 6〉 난황 내 콜레스테롤 측정

<65> 본 발명의 CLA 정제부산물을 백색레그혼종 산란계에 식이 급여한 후, 난황 내 콜레스테롤 (cholesterol) 함량을 하기의 방법으로 확인하였다.

<66> 상기 실시예 4-1에서의 실험기간 동안 매주 수집한 난황 시료를 -20℃에서 보관하였으며, 이를 분석 직전 꺼내어 콜레스테롤 키트 (cholesterol kit, Wako)를 사용하여 효소적 분해법에 의해 분석하였다. 실시예 4에서 제조한 CLA 정제부산물 함유 사료조성물을 급여 한 그룹의 난황 내 콜레스테롤 수치는 식이 급여 후 첫 주에 대조군에서의 콜레스테롤 수치와 함께 상승하였으나, 곧 안정화되어 식이군 사이에서 유의적 차이를 나타내지 않았다 (도 6).

<67> 이상의 설명으로부터, 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자는 본 발명이 그 기술적 사상이나 필수적 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있음을 이해할 수 있다. 이와 관련하여, 이상에서 기술한 실시예 및 실험예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 제한적인 것이 아닌 것으로 이해하여야 한다. 본 발명의 범위는 전술한 상세한 설명보다는 후술되는 특허청구범위의 의미 및 범위, 그리고 그 등가개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포섭되는 것으로 해석되어야 한다.

발명의 효과

<68> 본 발명은 항비만, 동맥경화예방, 항암에 효과가 있는 가축의 축산물을 생산하기 위해, 식품 및 사료산업에서 활용되지 못하고 전량 폐기되었던 공액리놀레인산 정제부산물을 유효성분으로 함유하는 동물 사료조성물을 제공하는 효과가 있다. 또한, 본 발명의 공액리놀레인산 정제부산물 함유 사료조성물을 이용하여 저비용으로 고도불포화지방산을 유효성분으로 함유하는 가축 및 가축 유래 축산물을 효율적으로 생산할 수 있게 됨으로써, 저렴한 가격으로 각종 성인질환 예방 및 체내 기능 성분의 축적과 이로 인한 체내 생리활성증진을 통한 소비자의 건강증대 효과가 있을 것이다.

도면의 간단한 설명

<1> 도 1은 공액리놀레인산 (CLA)의 합성 및 정제과정을 통한, 본 발명의 공액리놀레인산 정제부산물의 제조방법에

대한 모식도이다.

<2> 도 2는 공액리놀레인산 정제부산물의 열안정성을 확인한 그래프이다. CLA는 공액리놀레인산, CBP는 공액리놀레인산 정제부산물, LA는 리놀레인산, LBP는 리놀레인산 정제부산물을 나타내며, 이하 동일하다.

<3> 도 3은 공액리놀레인산 정제부산물의 과산화물가 측정(peroxide value, POV test) 결과를 나타낸 그래프이다.

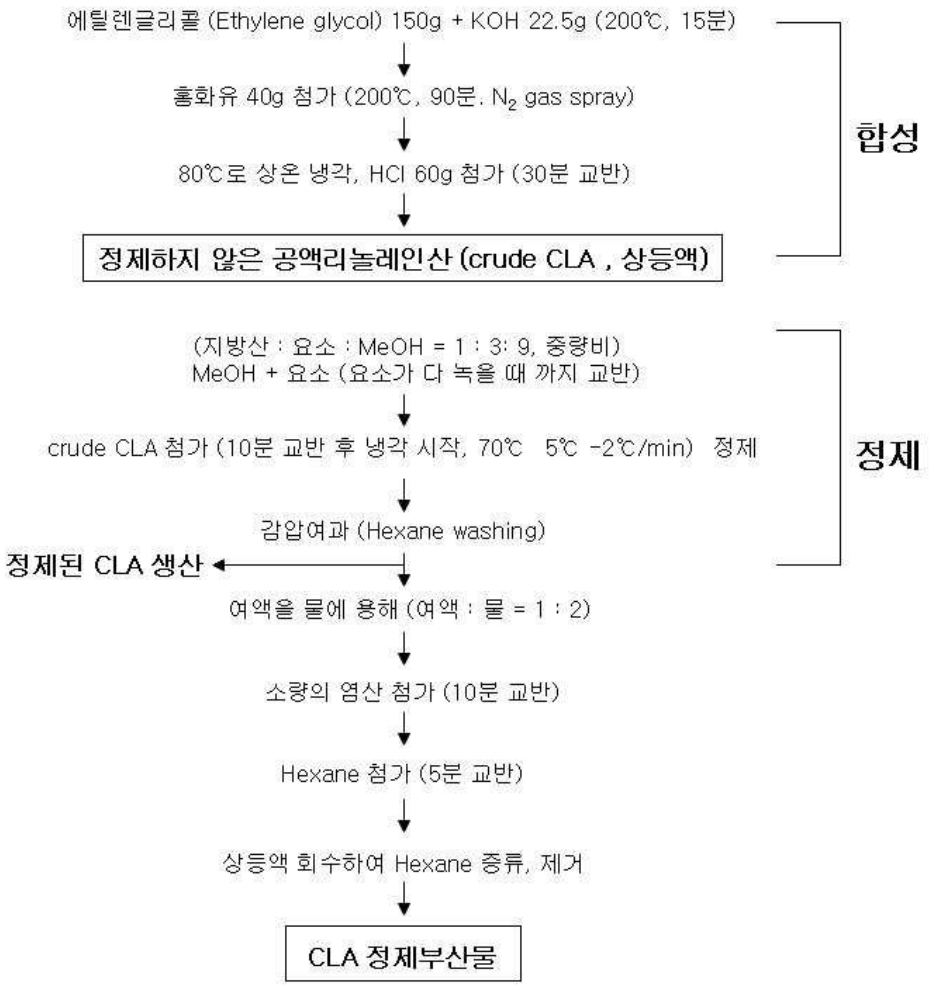
<4> 도 4는 공액리놀레인산 정제부산물에 함유된 각종 지방산의 에스테르화 정도를 TLC로 확인한 사진이다. 표준시료로 모노(mono-), 다이(di-), 트리(tri-) 리놀레인산을 사용하였다.

<5> 도 5는 본 발명의 공액리놀레인산 정제부산물 함유 사료조성물을 산란계에 식이 급여한 후, 산란계가 산출 (産出)한 계란의 난황 내 공액리놀레인산의 시간대 별 축적도를 확인한 그래프이다. 내부표준물질 (internal standard)로써 말가릭산 (Margaric acid, Heptadecanoic acid)을 사용하였다.

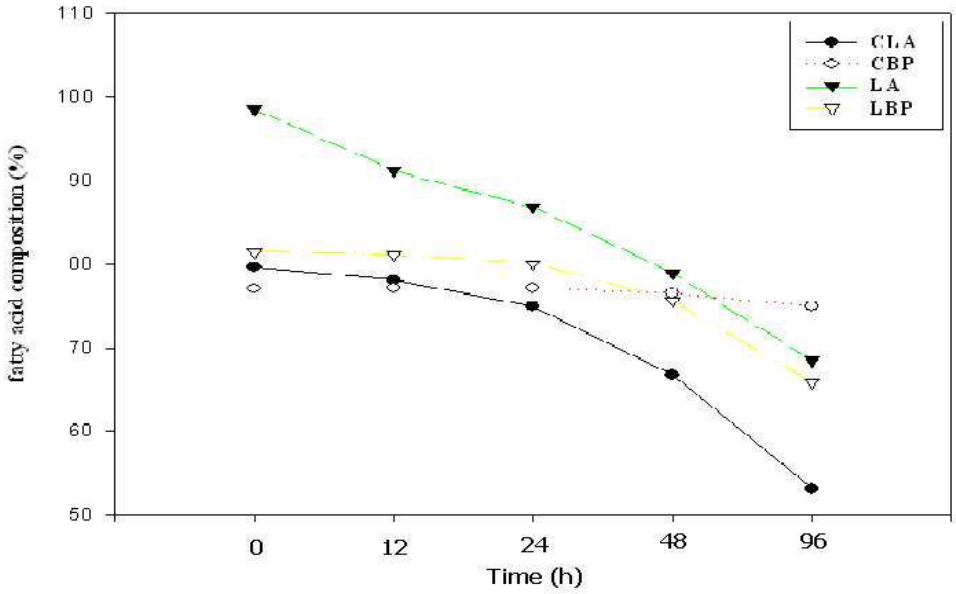
<6> 도 6은 본 발명의 공액리놀레인산 정제부산물 함유 사료조성물을 산란계에 식이 급여한 후, 산란계가 산출한 계란의 난황 내 콜레스테롤의 시간대별 함량변화를 확인한 그래프이다.

도면

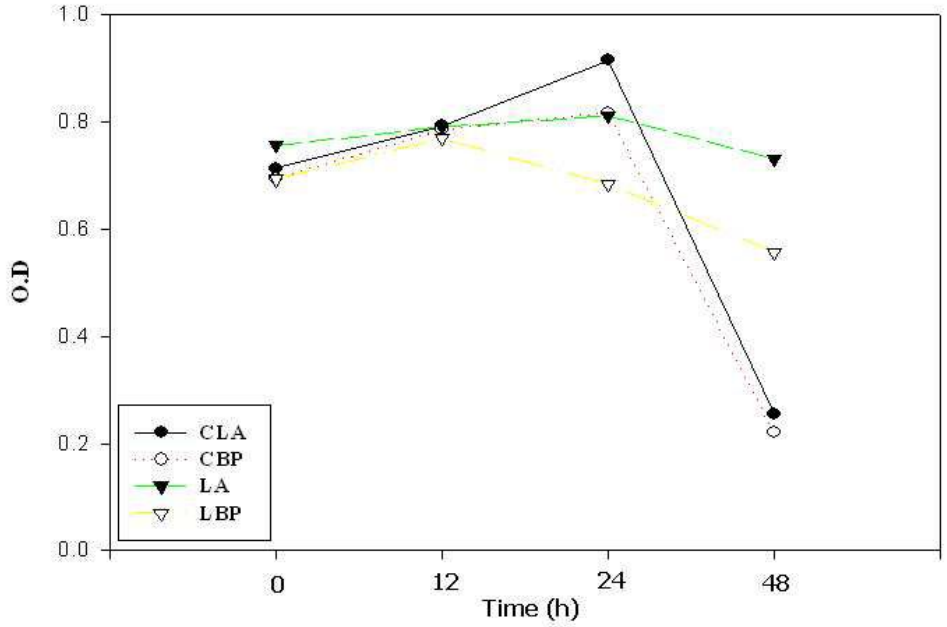
도면1



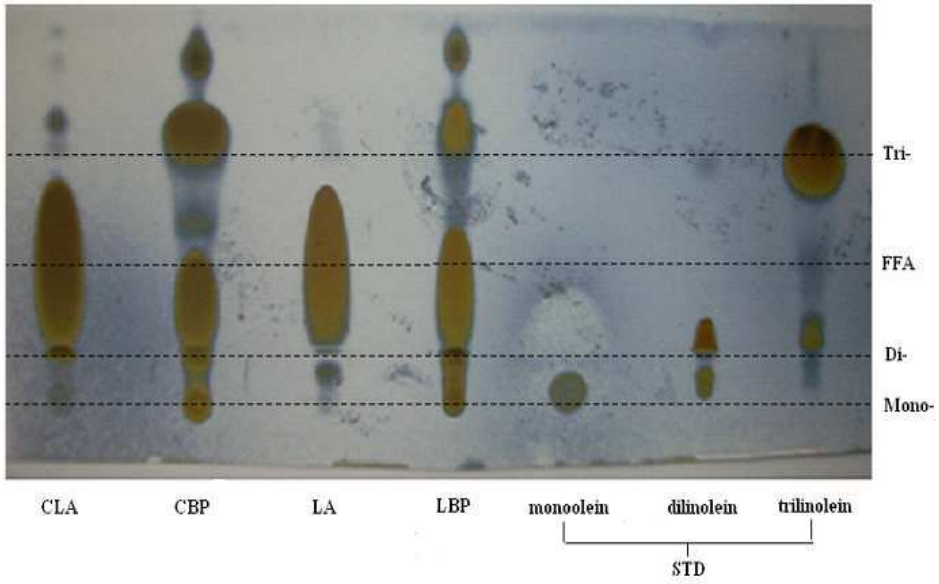
도면2


110
100
90
00
70
60
50
fatty acid composition (%)
0
12
24
48
96
Time (h)
CLA
CBP
LA
LBP

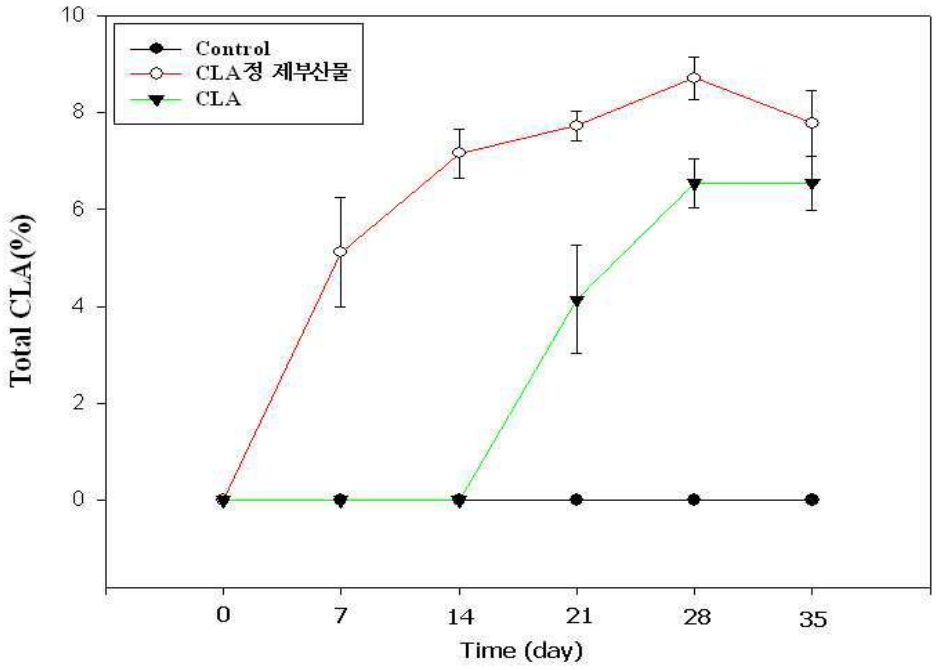
도면3


1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
O.D
0
12
24
48
Time (h)
CLA
CBP
LA
LBP

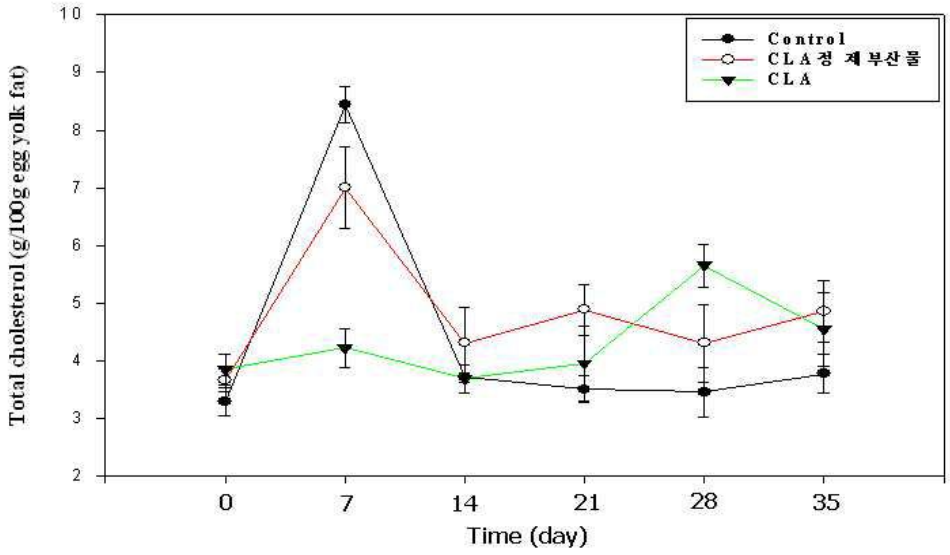
도면4


Tri-
FFA
Di-
Mono-
CLA
CBP
LA
LBP
monoolein
dilinolein
trilinolein
STD

도면5


Control
CLA정 제부산물
CLA
Total CLA(%)
Time (day)
0
2
4
6
8
10
0
7
14
21
28
35

도면6


Control
CLA정 제부산물
CLA
Total cholesterol (g/100g egg yolk fat)
Time (day)
10
9
8
7
6
5
4
3
2
0
7
14
21
28
35