



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2010-0083423
(43) 공개일자 2010년07월22일

(51) Int. Cl.

A23K 1/16 (2006.01) *A23K 1/17* (2006.01)

(21) 출원번호 10-2009-0002780

(22) 출원일자 2009년01월13일

심사청구일자 2009년01월13일

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울 성북구 안암동5가1 고려대학교 내

(72) 발명자

김영준

서울특별시 강남구 도곡동 963 41동 1반 역삼테크
아파트 104동 302호

조성도

대전광역시 유성구 노은동 열매마을9단지 904동
301호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인다나

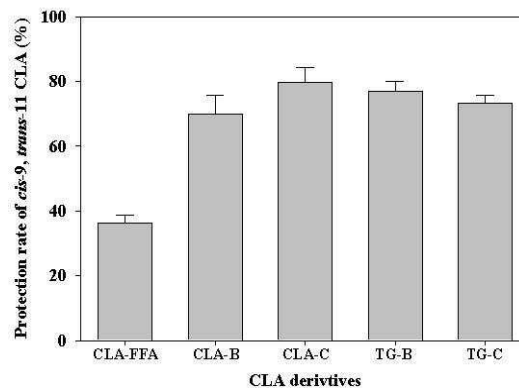
전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 공액 리놀레인산 또는 그의 유도체를 함유하는 리포솜을 포함하는 사료 조성물

(57) 요약

본 발명은 공액 리놀레인산 또는 그의 유도체를 리포솜 내에 도입하는 것을 포함하는 반추 미생물의 생체수소화 활성으로부터 공액 리놀레인산을 보호하는 방법 및 공액 리놀레인산 또는 그의 유도체를 함유하는 리포솜을 포함하는 사료 조성물을 제공한다. 본 발명의 방법에 따르면 공액 리놀레인산 또는 그의 유도체를 리포솜 내에 도입할 경우 반추 미생물의 생체수소화 활성으로부터 공액 리놀레인산이 보호되어 반추동물 내의 CLA 함량을 증진시킬 수 있게 된다. 따라서, 공액 리놀레인산 또는 그의 유도체를 함유하는 리포솜을 포함하는 사료 조성물을 반추 동물에게 급여하면 높은 CLA 함량을 갖는 낙농식품 및 축산물 등을 생산할 수 있으므로, CLA 함유 기능성 식품의 제조가 용이해진다.

대표도 - 도7



(72) 발명자

박희규

경기도 용인시 수지구 상현1동 수지 현대 센트럴
아이파크 104동 1401호

유효경

경기도 고양시 일산서구 주엽동 강선 우성
1903-105

지홍근

경기도 부천시 원미구 상동 사랑 청구 1620-801

최낙진

서울특별시 광진구 모진동 199-19 삼풍연립 B-103

장종수

서울특별시 서초구 반포2동 신반포3차 아파트
25-1205

권웅기

강원도 평창군 도암면 차항리 268번지

정완식

충청남도 천안시 성환읍 성환11리 379-16

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 200801010812470010300

부처명 농촌진흥청

연구사업명 농업과학기술개발공동연구사업

연구과제명 [1차년도]기능성 영양물질 강화 한우 고급육 생산 기술개발

주관기관 한국방송통신대학교

연구기간 2008년 03월 01 ~ 2008년 12월 31일

특허청구의 범위

청구항 1

공액 리놀레인산 또는 그의 유도체를 리포솜 내에 도입하는 것을 포함하는
반추 미생물의 생체수소화 활성으로부터 공액 리놀레인산을 보호하는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 공액 리놀레인산 또는 그의 유도체는 공액 리놀레인산, 공액 리놀레인산의 유리 지방산 및 공액 리놀레인산-트리글리세라이드를 포함하는 것인 방법.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 리포솜은 나노리포솜인 방법.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 공액 리놀레인산 또는 그의 유도체의 리포솜 내의 도입은

공액 리놀레인산 또는 그의 유도체와 리포솜 형성 조성물을 교반하고 균질화하는 것을 포함하는 방법.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 리포솜 형성 조성물은 지방산, 레시틴, 글리세린 및 카프릭-카프릭 트리글리세라이드, 콜레스테롤 및 물로 이루어진 것인 방법.

청구항 6

공액 리놀레인산 또는 그의 유도체를 함유하는 리포솜을 포함하는 사료 조성물.

명세서

발명의 상세한 설명

기술 분야

본 발명은 공액 리놀레인산 또는 그의 유도체를 리포솜 내에 도입하는 것을 포함하는 반추 미생물의 생체수소화 활성으로부터 공액 리놀레인산을 보호하는 방법 및 공액 리놀레인산 또는 그의 유도체를 함유하는 리포솜을 포함하는 사료 조성물에 관한 것이다.

[0001]

배경 기술

- [0002] 공액 리놀레인산(conjugated linoleic acid, 이하 'CLA'라 한다)은 필수지방산인 리놀레인산(linoleic acid, 이하 'LA'라 한다)의 공액 이성체로 반추 동물의 젖이나 근육에서 미량 발견되는 천연 지방산 성분이다.
- [0003] CLA는 사슬 내부의 시스(cis)-9 및 트랜스(trans)-11, 또는 트랜스-10 및 시스-12 위치에 사슬 내부의 및 트랜스(trans) 배열에 공역화이중결합을 가지는데, 특히 시스-9 및 트랜스-11 부위의 공역화이중결합으로 인해 인체에 유용한 생리활성이 나타난다.
- [0004] CLA는 주로 동물성 식품에 함유되어 있으며, 특히 반추동물에 많이 존재하는 것으로 알려져 있다. 쇠고기의 CLA 함량은 2.9~4.3 mg CLA/fat이며, 어린 양에서는 5.6 mg CLA/fat이고, 해산물에서는 0.3~0.6 mg CLA/fat의 소량이 존재하며, 유제품에서의 함량은 우유의 경우 5.5 mg CLA/fat, 그리고 치즈에서는 3~7 mg CLA/fat의 양이 확인된다. 인간의 일일 CLA 섭취량은 채식 위주인 동양인의 경우에는 0.1 g/day이고, 육식을 많이 하는 서양인의 경우는 0.4 g/day로 예상되고 있다.
- [0005] CLA는 동맥경화증의 발생저하(Artery. 1997. 22:266-277), 면역기능향상(J. Nut. 1999. 129:32-38), 항암작용(Anticancer research. 1997. 17:969-973), 성장촉진(J. Nut. 2000. 130:2981-2989) 및 당뇨병 등의 질환에 대해 우수한 치료 효과를 나타내며, 체지방감소(Am. J. Physiol. 1998. 275:R667-R672)를 통해 비만을 억제한다고도 알려져 있다. 이러한 특성으로 인해 CLA를 기능성 식품 또는 의약품의 유효성분으로 이용하려고 시도되고 있는데, 예를 들어, 소나 젖소의 사료에 리놀레인산 또는 리놀레인산의 함량이 풍부한 식물성 오일을 함유하는 사료를 급여하여 CLA의 함량을 높일 수 있다는 보고가 있다.
- [0006] 반추동물의 반추위에 서식하는 반추 미생물은 리놀레인산을 전구체로 하여 CLA를 생성한다. 그러나, 생성된 CLA는 반추 미생물의 생체수소화(biohydrogenation, BH) 활성으로 인해 바세닉산(vaccenic acid, VA)이나 스테아르산(stear acid)으로 전환되어 반추동물 내에 잔존하는 CLA 함량은 낮아지게 된다. 따라서, 반추동물에서 높은 함량으로 CLA를 얻기 위해서는 반추미생물의 CLA의 생산능을 증가시키거나, CLA를 반추 미생물의 생체수소화 활성으로부터 보호할 수 있는 기술의 개발이 필요하다.

[0007]

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

- [0008] 본 발명은 반추동물에서 높은 함량으로 CLA를 얻기 위해 CLA를 반추 미생물의 생체수소화 활성으로부터 보호할 수 있는 기술을 개발하는 것을 목적으로 한다.

[0009]

과제 해결수단

- [0010] 상기 과제의 해결을 위해, 본 발명은 공액 리놀레인산 또는 그의 유도체를 리포솜 내에 도입하는 것을 포함하는 반추 미생물의 생체수소화 활성으로부터 공액 리놀레인산을 보호하는 방법을 제공한다.
- [0011] 본 발명은 또한 공액 리놀레인산 또는 그의 유도체를 함유하는 리포솜을 포함하는 사료 조성물을 제공한다.

효과

- [0012] 본 발명의 방법에 따르면 공액 리놀레인산 또는 그의 유도체를 리포솜 내에 도입할 경우 반추 미생물의 생체수소화 활성으로부터 공액 리놀레인산이 보호되어 반추동물 내의 CLA 함량을 증진시킬 수 있게 된다. 따라서, 공액 리놀레인산 또는 그의 유도체를 함유하는 리포솜을 포함하는 사료 조성물을 반추동물에게 급여하면 높은 CLA 함량을 갖는 낙농식품 및 축산물 등을 생산할 수 있으므로, CLA 함유 기능성 식품의 제조가 용이해진다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

- [0013] 본 발명자들은, 반추 동물 내 CLA를 축적시키기 위해 다양한 형태의 기질을 급여하였을 경우 반추 미생물에 의한 CLA의 생산능과 반추 동물의 생체 수소화활성으로부터 CLA가 보호되는 정도를 비교하였다. 구체적으로, 공액 리놀레인산이나 그의 유도체, 또는 공액 리놀레인산 또는 그의 유도체를 함유하는 리포솜을 첨가하였을 때의 반추 미생물에 의한 CLA 생산능과 반추미생물의 생체수소화 활성으로부터의 CLA 보호 효과를 비교하였다. 그 결과, 공액 리놀레인산 또는 그의 유도체를 함유하는 리포솜을 첨가하였을 때 반추 미생물에 의한 CLA 생산능과 반추미생물의 생체수소화 활성으로부터의 CLA 보호 효과가 가장 우수한 것으로 확인되었다. CLA를 리포솜 형태로 제조하는 것은 CLA 함유 화장품 등에서 CLA의 흡수를 개선을 위해 사용된 예가 있긴 하나, 반추미생물의 생체수소화 활성으로부터의 CLA 보호를 위해 사용된 예는 보고된 바 없다.
- [0014] 따라서, 본 발명은 공액 리놀레인산 또는 그의 유도체를 리포솜 내에 도입하는 것을 포함하는 반추 미생물의 생체수소화 활성으로부터 공액 리놀레인산을 보호하는 방법을 제공한다.
- [0015] 본 발명의 한 구체 예에서, 상기 공액 리놀레인산 또는 그의 유도체는 공액 리놀레인산, 공액 리놀레인산의 유리 지방산 및 공액 리놀레인산-글리세라이드를 포함하는 것일 수 있다. 바람직하게는 공액 리놀레인산-글리세라이드 형태가 반추 미생물의 생체 수소화 활성으로부터 공액 리놀레인산을 보호하기에 적합하다. 본 발명에서 사용되는 공액 리놀레인산 또는 그의 유도체는 당업계에 공지된 방법에 의해 합성한 것이거나, 시판되는 것을 이용할 수 있다. 예를 들어, 공액 리놀레인산-트리글리세라이드는 공액 리놀레인산과 글리세롤을 혼합하고 리파아제를 첨가하여 반응시킨 후 에탄올을 첨가하고 여과를 통해, 반응 불순물을 제거하는 과정을 통해 합성할 수 있다.
- [0016] 본 발명의 다른 구체예에서, 상기 리포솜은 나노리포솜일 수 있다.
- [0017] 본 발명의 다른 구체예에서, 상기 공액 리놀레인산 또는 그의 유도체의 리포솜 내의 도입은 공액 리놀레인산 또는 그의 유도체와 리포솜 형성 조성물을 교반하고 균질화하는 것을 포함할 수 있다.
- [0018] 한 측면에서, 상기 리포솜 형성 조성물은 이에 제한되는 것은 아니나, 지방산, 레시틴, 글리세린 및 카프릭-카프릭 트리글리세라이드, 콜레스테롤 및 물로 이루어진 것일 수 있다.
- [0019] 본 발명은 또한 공액 리놀레인산 또는 그의 유도체를 함유하는 리포솜을 포함하는 사료 조성물을 제공한다. 앞서 언급한 바와 같이, 본 발명자들에 의해 공액 리놀레인산 또는 그의 유도체를 함유하는 리포솜은 반추 미생물에 의한 CLA 생성능 및 반추 미생물의 생체수소화 활성으로부터 CLA를 보호하는 능력을 향상시키는 것이 밝혀졌다. 따라서, 공액 리놀레인산 또는 그의 유도체를 함유하는 리포솜을 사료 조성물에 포함시켜 반추 동물에게 급여할 경우, 반추 동물 내의 CLA 축적률을 현저하게 향상시킬 수 있다.
- [0020] 한 구체 예에서, 상기 공액 리놀레인산 또는 그의 유도체는 공액 리놀레인산, 공액 리놀레인산의 유리 지방산 및 공액 리놀레인산-글리세라이드를 포함하는 것일 수 있다. 바람직하게는 공액 리놀레인산-글리세라이드 형태가 반추 미생물의 생체 수소화 활성으로부터 공액 리놀레인산을 보호하기에 적합하다.
- [0021] 다른 구체예에서, 상기 리포솜은 나노리포솜일 수 있다.
- [0022] 본 발명의 다른 구체예에서, 상기 공액 리놀레인산 또는 그의 유도체를 함유하는 리포솜은 공액 리놀레인산 또는 그의 유도체와 리포솜 형성 조성물을 교반하고 균질화하는 것을 포함하는 방법에 의해 제조된 것일 수 있다. 한 측면에서, 상기 리포솜 형성 조성물은 이에 제한되는 것은 아니나, 지방산, 레시틴, 글리세린 및 카프릭-카프릭 트리글리세라이드, 콜레스테롤 및 물로 이루어진 것일 수 있다.
- [0023] 본 발명의 이점 및 특징, 그리고 그것들을 달성하는 방법은 상세하게 후술되어 있는 실시예들을 참조하면 명확해질 것이다. 그러나 본 발명은 이하에서 개시되는 실시예들에 한정되는 것이 아니라 서로 다른 다양한 형태로 구현될 것이며, 단지 본 실시예들은 본 발명의 개시가 완전하도록 하고, 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 발명의 범주를 완전하게 알려주기 위해 제공되는 것이며, 본 발명은 청구항의 범주에 의해 정의될 뿐이다.
- [0024] [실시예]
- [0025] 반추 동물 내 CLA를 축적시키기 위해 다양한 형태의 기질을 급여하였을 경우 반추 미생물에 의한 CLA의 생산능과 반추 동물의 생체 수소화활성으로부터 CLA가 보호되는 정도를 비교하였다.
- [0026] 상기 실험의 수행을 위해, CLA생산과 관련된 대표적인 반추 미생물로서 높은 생체수소화 활성을 지니고 있는

Butyrivibrio fibrisolvens A38을 이용하였다.

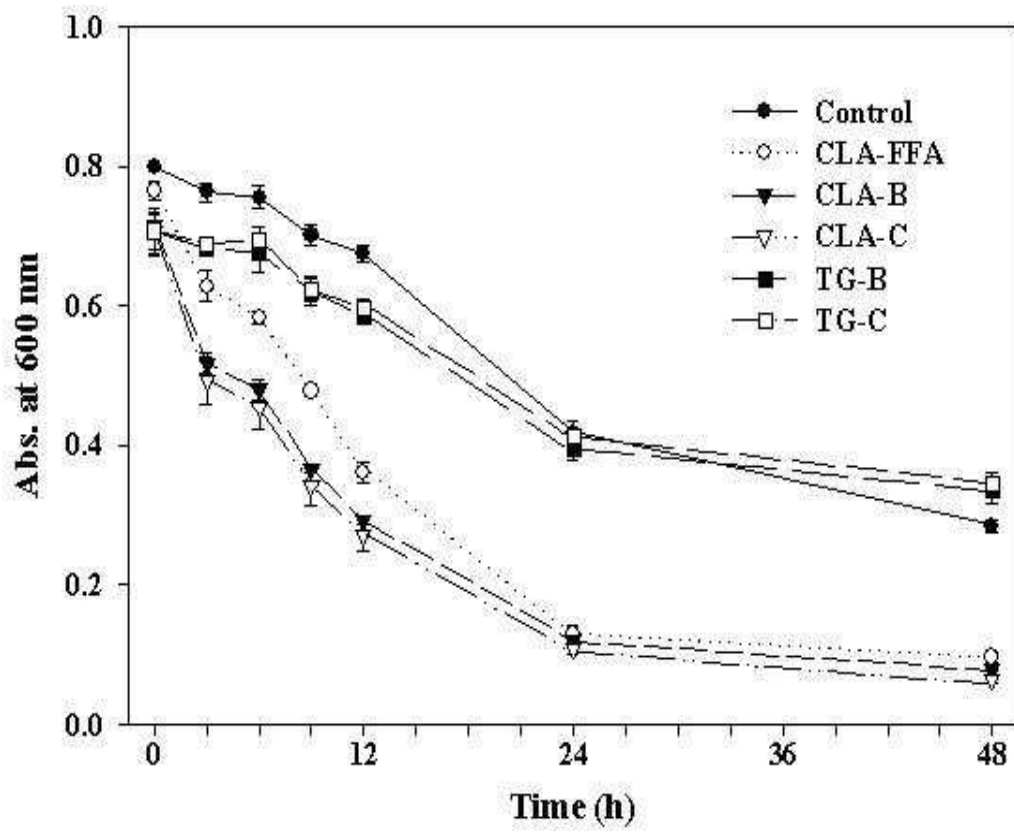
- [0027] 먼저, *Butyrivibrio fibrisolvens* A38 균주를 혐기적 조건에서 반추 위액 유사 배지에 접종하여 37℃에서 활성 화시켰으며, 활성화된 균이 포함된 배지에 기질 첨가하고 시간대별로 배양액을 채취하여 600 nm에서 흡광도 측정함으로써 성장곡선을 관찰하는 한편, 배양액에서 지방을 추출하여 에틸레이션 과정을 통해 전처리하고 GC 분석을 수행함으로써 CLA 함량을 측정하였다. 이때 에틸레이션 과정은 구체적으로 다음과 같이 수행되었다: 샘플 1 ml 에 IS 0.25 ml, CHCl₃:MeOH(1:1) sol. 12 ml, 0.88 KCl(D.W) sol. 2 ml 첨가하여 볼텍싱한 후, 상등액은 제거하고 하등액만 회수하여 질소를 농축하고, 2% H₂SO₄(EtOH) 10 ml를 첨가 후 80℃에서 1시간 반응하고, 헥산 4 ml, 포화 NaCl 8 ml 첨가 후 볼텍싱하고, 상등액 2 ml을 회수하여 바이알에 옮긴 후 질소농축하고, 특급 헥산 300 ul를 첨가 후 GC 바이알에 옮긴다.
- [0028] 공액 리놀레인산이나 그의 유도체, 또는 공액 리놀레인산 또는 그의 유도체를 함유하는 리포솜을 첨가하였을 때의 반추 미생물에 의한 CLA 생산능과 반추미생물의 생체수소화 활성으로부터의 CLA 보호 효과를 비교하는 실험에서, 기질로 유리 지방산 형태의 공액 리놀레인산(CLA-FFA), 글리세라이드 형태의 공액 리놀레인산(CLA-TG), B 타입 나노리포솜화된 공액 리놀레인산(CLA-B), C 타입 나노리포솜화된 공액 리놀레인산(CLA-C), B 타입 나노리포솜화된 공액 리놀레인산-트리글리세라이드(TG-B), C 타입 나노리포솜화된 공액 리놀레인산-트리글리세라이드(TG-C)가 이용되었다. 상기 리포솜의 조성은 다음과 같았다.
- [0029] B 타입: 지방산(20%), 포화 레시틴, 글리세린(40%), 카프릭-카프릭 TG,
- [0030] 콜레스테롤, 물
- [0031] C 타입: 지방산(20%), 불포화 레시틴, 글리세린(32%), 카프릭-카프릭 TG,
- [0032] 콜레스테롤, 물
- [0033] 도 1은 각각의 기질의 첨가시의 *Butyrivibrio fibrisolvens* A38 균주의 성장 곡선을 보여준다. 도 1에서 볼 수 있는 바와 같이, CLA-FFA, CLA-B, CLA-C 그룹에서는 기질에 의해 균의 성장이 저해되었지만, TG-B와 TG-C 그룹에서는 기질을 첨가하지 않은 대조군과 같은 성장을 보였다. TG-B와 TG-C 그룹의 CLA는 에스테르화 되어 카복실 그룹이 노출되지 않기 때문에 균의 성장을 저해 하지 않은 것으로 판단되었다.
- [0034] 도 2는 유리 지방산 형태의 공액 리놀레인산(CLA-FFA)의 첨가시 *B. fibrisolvens*에 의한 지방산 조성 변화를 보여준다. 도 2에서 볼 수 있는 바와 같이, CLA-FFA 그룹에서 CLA는 *B. fibrisolvens*의 생체수소화 활성으로 인해 3시간 후에 CLA가 50% 정도 바덴산으로 전환되었고 그 이후에도 시간이 지남에 따라 CLA는 점차 감소하고 VA는 점차 증가하며, 48시간 후에는 *cis*-9, *trans*-11 CLA가 36% 정도만 보존됨을 알 수 있다.
- [0035] 도 3 내지 6은 나노리포솜화된 공액 리놀레인산(각각 CLA-B, CLA-C, TG-B 및 TG-C)의 첨가시 *B. fibrisolvens*에 의한 지방산 조성 변화를 보여준다. 도 3 내지 6에서 볼 수 있는 바와 같이, 네 그룹 모두에서 CLA는 70% 이상 보존되었으며, 이는 CLA를 리포솜화 시킴으로써 CLA를 반추미생물의 BH로부터 보호할 수 있음을 의미한다.
- [0036] 도 7은 각 기질에 따른 CLA 보호 효과를 비교하여 보여주는 그래프이다. 도 7에서 볼 수 있는 바와 같이, 본 실험에서 사용된 CLA 리포솜에서 모두 CLA-FFA에 비하여 *B. fibrisolvens*의 BH 활성으로부터 CLA의 보호효과가 있음이 확인되었다. 따라서, CLA 또는 CLA 유도체를 함유하는 리포솜을 반추동물에 급여하였을 경우 반추동물 내 CLA 축적률을 높일 수 있을 것으로 기대된다.

도면의 간단한 설명

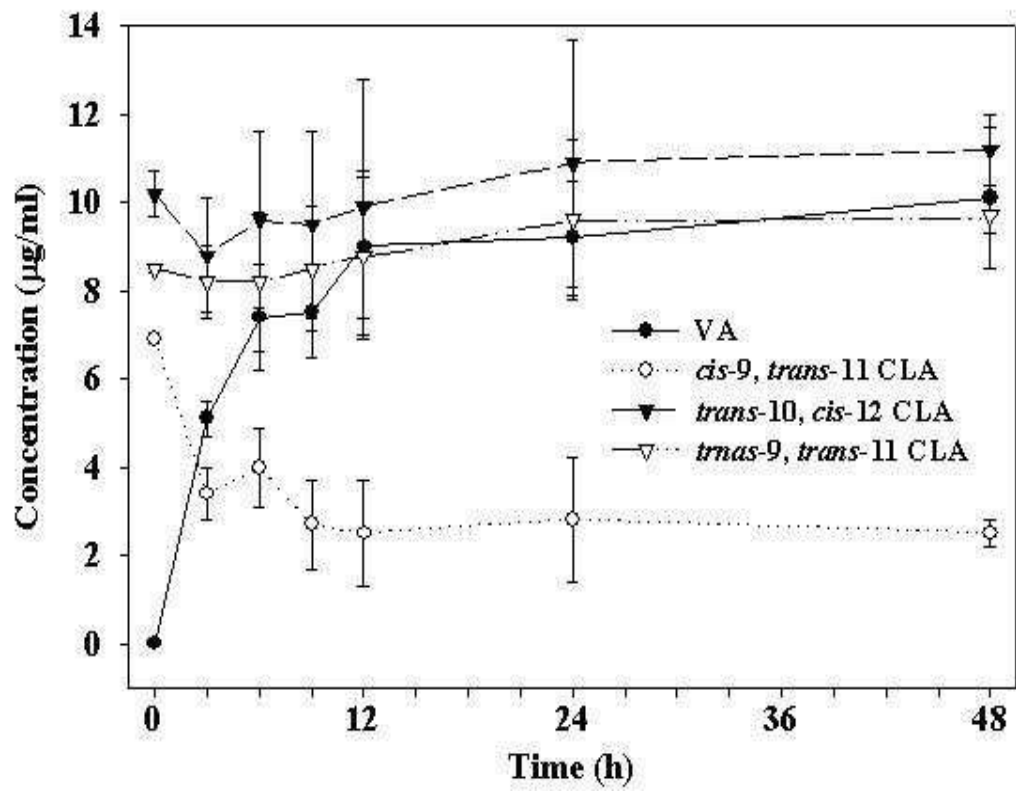
- [0037] 도 1은 각각의 기질의 첨가시의 *Butyrivibrio fibrisolvens* A38 균주의 성장 곡선을 보여준다.
- [0038] 도 2는 유리 지방산 형태의 공액 리놀레인산(CLA-FFA)의 첨가시 *B. fibrisolvens*에 의한 지방산 조성 변화를 보여준다.
- [0039] 도 3 내지 6은 나노리포솜화된 공액 리놀레인산(각각 CLA-B, CLA-C, TG-B 및 TG-C)의 첨가시 *B. fibrisolvens*에 의한 지방산 조성 변화를 보여준다.
- [0040] 도 7은 각 기질에 따른 CLA 보호 효과를 비교하여 보여주는 그래프이다.

도면

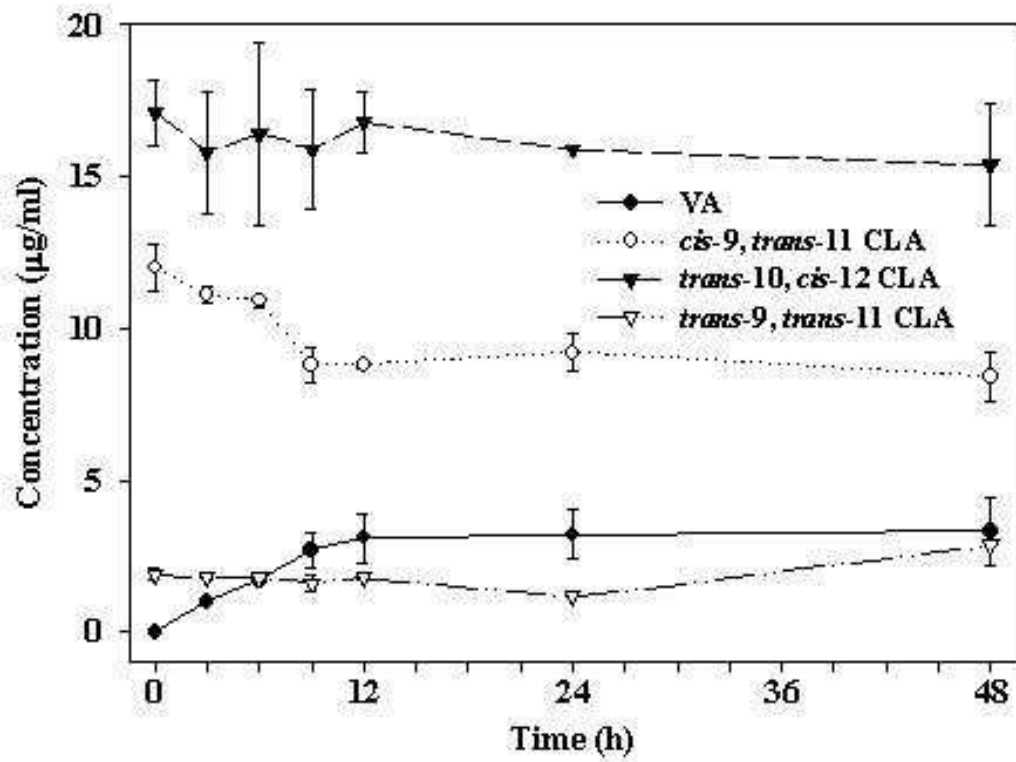
도면1



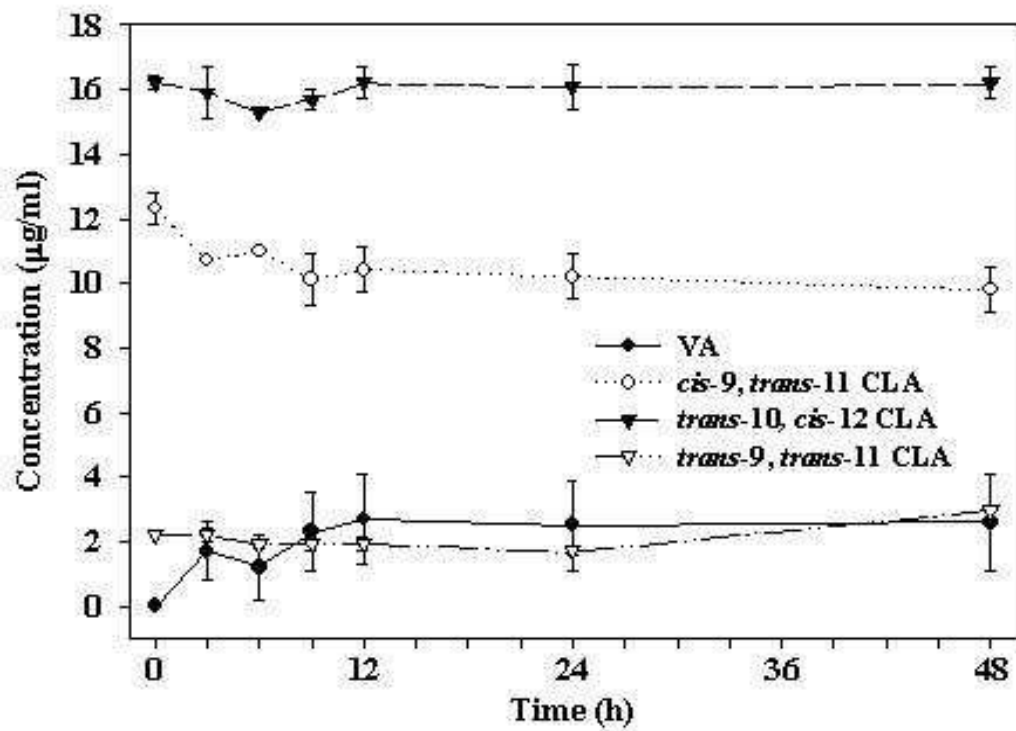
도면2



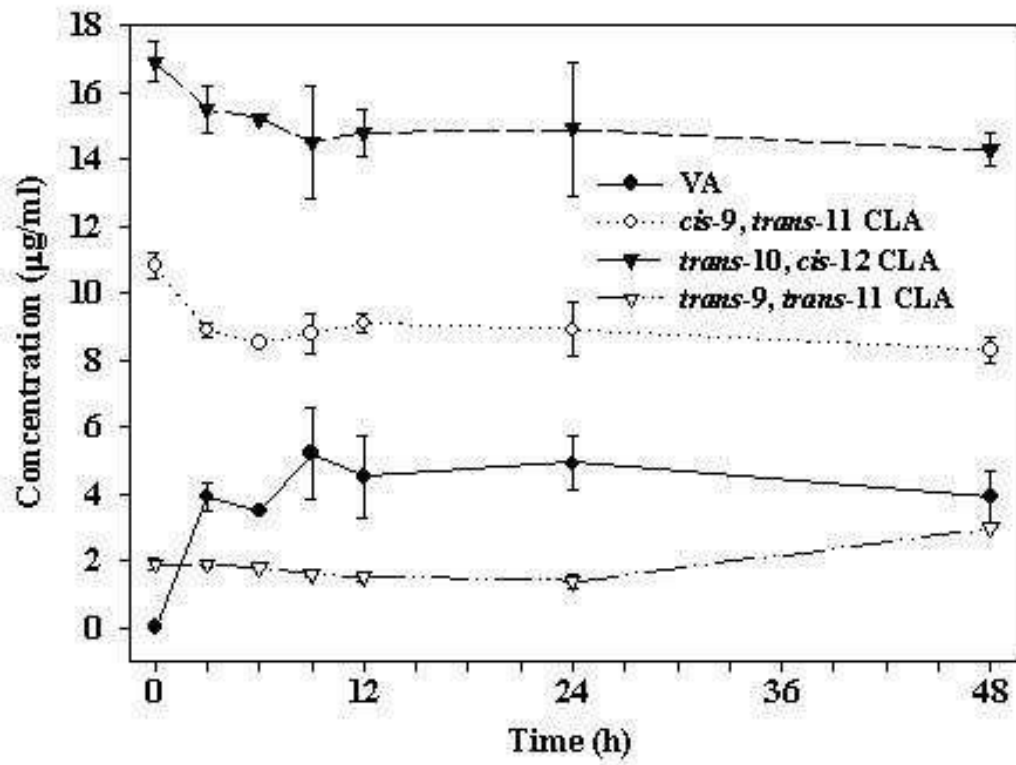
도면3



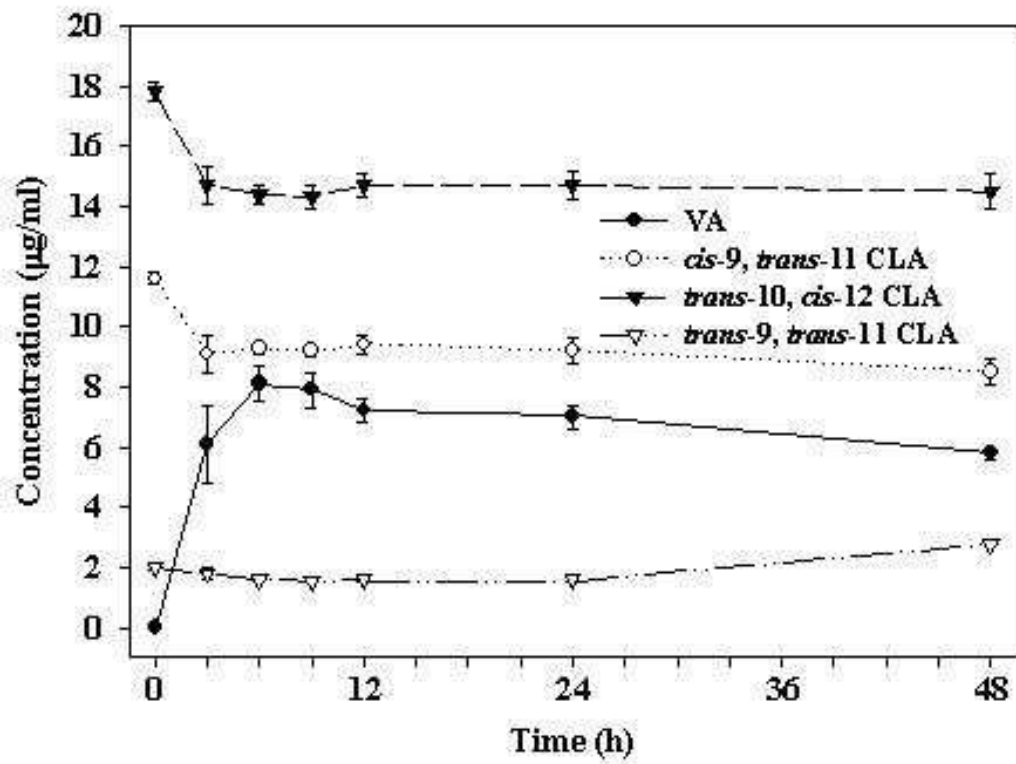
도면4



도면5



도면6



도면7

