

어류비늘에서 추출한 콜라겐펩타이드의 제조 및 유효성 분석

이미진[†] · 정노희

충북대학교 공과대학 공업화학과, 씨엔에이바이오텍(주)[†]
(2009년 10월 7일 접수 ; 2009년 12월 16일 채택)

Preparation and Availability Analysis of Collagen Peptides Obtained in Fish Scale

Mi-Jin Lee[†] · Noh-Hee Jeong

Dept. Indus. Eng. Chem. Chungbuk Univ. Cheongju, 361-763 Korea,
CNABIOTECH CO., Ltd[†]

(Received October 7, 2009 ; Accepted December 16, 2009)

Abstract : This study is manufacturing method and analysis of feasibility about collagen peptide from fish scale. This is processed by enzyme hydrolysis, isolating and refining etc. The results of analysis of nutritional composition showed protein content of collagen peptide. In the analysis of constitutive amino acids, the ratio of contents of hydroxyproline and glycine, the characteristics of collagen peptides appeared similar and the contents of glutamic acid and aspartic acid which are involved in protein metabolism. As a result of measurement of total polyphenol content and total flavonoid, it showed that collagen peptide had more contents generally, and the effect of bioactivity of pig-skin collagen peptide appeared higher although different kinds of scale collagen peptide showed a little DPPH radical scavenging ability, total antioxidant capacity by ABTS, ACE inhibitory.

Keyword ; collagen, collagen peptide, glycoprotein, protease, bioactivity of collagen peptide

1. 서론

콜라겐은 인류의 생활에 응용된 단백질 천연 고분자 물질이다. 인류는 경험적 지식을 축적하는 과정에서 피부의 가공보존법을 습득하고 이를 피혁이나 모피 등으로 가공품을 지속적으로 개발 이용하여 왔다. 피혁의 제조는 놀라울 만

한 인류 최초의 생산 기술이었다. 또한 동물의 가죽을 끓여서 최초로 제조한 콜라겐이 젤라틴에서 기인하는 것과, 그의 응용에 있어 피혁이나 젤리틴보다 유용하다. 합성고분자 공업이 발전한 지금까지도 피혁이 갖고 있는 콜라겐의 기능적 성질을 완전히 합성 고분자로 대체하지 못하며, 또한 젤라틴의 경우도 사진용 필름 제조에 있어서 다른 재료로 대체해서는 안 되는 것이 콜라겐의 기능이다. 이와 같이 오랜 역사를 갖는 콜라겐은 공업적으로 이용된 다른 단

[†]주저자 (e-mail : shuduc@hanmail.net)

백질과 같이 그의 물리화학, 생화학 및 생물학적 연구가 1950년 이후 활발하게 되었다. 그 결과 가용성 콜라겐 펩타이드 발견에 의하여 콜라겐의 연구가 급진전을 보게 되었고, 의약품 건강기능식품 및 화장품 등의 개발에 있어 콜라겐은 중요한 재료가 되고 있다[1]. 즉, 식품으로서의 콜라겐은 햄, 소시지 등에 식감을 높이는 첨가제로 이용되고, 양이나 돼지의 장을 대신해 가식성 식품포장재로 이용될 뿐만 아니라 다른 식품에도 많이 이용되고 있다. 의약품으로서 콜라겐은 류마티스 환자에게 경구 투여했을 경우 효과가 있는 것으로 나타났으며, 화상이나 상처에 의해 손상된 피부에 대한 치유효과가 있는 것으로 밝혀져 의료용 고분자 재료로서 외과 수술용 봉합사, 인공투석막, 인공모세관 및 인공장기 등의 용도로 이용되고 있다[2,3]. 이처럼 콜라겐은 식품 및 의약품에서 뿐만 아니라 화장품, 섬유산업 등 넓은 분야에서 다양하게 이용된다. 그리고 현재 콜라겐 산업의 발전으로 인한 수요의 증가로 더욱 많은 콜라겐이 요구되고 있는 실정이며, 동물을 이용한 콜라겐이 지니고 있는 인체 전이 위험성을 배제한 해양성 수산물을 이용한 연구가 진행되고 있다[4,5]. 일반적으로 콜라겐은 동물의 몸속에서 가장 많이 분포되어 있는 선섬유상 단백질로서 피부의 진피층과 결합조직에 분포되었으며 뼈를 구성하고 있는 단백질 중 90%가 콜라겐이다. 또한 콜라겐은 인체 내에서는 장기를 감싸는 막, 관절 연골, 눈의 각막 및 뼈와 피부 등 거의 모든 부위에 존재하고 있다. 일반적으로 의료용이나 화장품용으로 사용되고 있는 콜라겐은 Fig.1 과 같은 구조로 동물의 뼈와 피부에서 추출하여 얻은 것으로서 분자량이 약 10만 정도의 폴리펩타이드 사슬을 이룬 천연 고분자 단백질이다[6].

동물이 나이가 들면 콜라겐 선섬유상의 안정화로 가교결합이 생성되어 분자량이 큰 불용성 콜라겐으로 변화된다. 이를 가용화 시키는 경우 종래에는 젤라틴을 물에서 가열하면서 추출하는 방법을 사용하였으나 요즘에는 단백질 가수분해 효소를 이용한 다량의 수용성 콜라겐 제조 방법이 확립되어 응용범위도 점차 넓어지고 있다. 그러나 현재 이용되는 대부분의 콜라겐은 육상동물인 소나 돼지 등의 껍질, 뼈 등에서 유래한 것으로 이들 유래 콜라겐은 광우병 및 구제역 등 인체 전이 위험성을 가지고 있어 보다

안정성을 위하여 동물 이외의 대체 자원에 의해 제조된 콜라겐의 필요가 증대되고 그에 따른 제조 기술도 요구된다. 따라서 해양성 또는 식물성 원료를 이용한 수용성 콜라겐 펩타이드의 제조가 이루어지고 있다[7,8]. 이는 콜라겐의 자원부족 및 기존의 동물 유래콜라겐이 가지고 있는 위험성을 감소시킨 안전한 새로운 대체 자원이 될 수 있다.

국내외의 콜라겐에 관한 연구로는 “불가사리에서 얻은 콜라겐의 산업적 이용 기술 개발”[9], “도게 부산물로부터 유용콜라겐을 제조 및 그의 가능성”[10], “황소개구리의 껍질 및 육 콜라겐의 분리정제 및 특성”[11], “돈피 콜라겐의 특성과 기능성”[12] 등 주로 식품가공 부산물 또는 폐자원의 활용차원에서 연구되었으며, 현재까지 해양 수산 생물의 가공 부산물을 이용한 콜라겐 추출 및 연구는 bigeye snapper(Priacanthus)[13], Nile perch(Lates niloticus)[14], Great blue shark (Prionace glyca)[15], Bullhead shark(Heleodontus japonicus)와 Chub mackerel(Scomber japonicus)[16], Squid(Illex argentinus)[17], 황다랑어[18] 등의 껍질이나 비늘 및 뼈 등에서 추출하여 특성을 밝혔다. 이와 같이 수산물의 가공 공정 중에 발생하는 부산물을 이용한 콜라겐 추출이 주를 이루고 있으며, 이들에 대한 기능성에 관한 연구가 지속적으로 이루어지고 있다.

따라서 본 연구에서는 tilapia 종의 어류비늘을 원료로 사용하여 어류콜라겐 펩타이드(SC, collagen peptide from scale)를 제조한 후 현재 식품 및 화장품 원료 등 여러 분야에 다양한 용도로 시판되고 있는 씨엔에이바이오텍(주)의 돈피젤라틴에서 추출한 돈피젤라틴 콜라겐펩타이드(PC, collagen peptide from pig-skin gelatin)를 비교군으로 하여 물리화학적 특성과 생리활성을 비교 검토하였다.

2. 실험방법

2.1. 실험재료 및 가수분해 효소

본 실험에서 사용된 재료로는 어류 비늘인 tilapia 종의 비늘로 PT Solid Joint Baru Indonesia 산을 택하였고 동물성 재료인 돈피젤라틴은 국내 (주)삼미젤라틴사의 돈피젤라틴

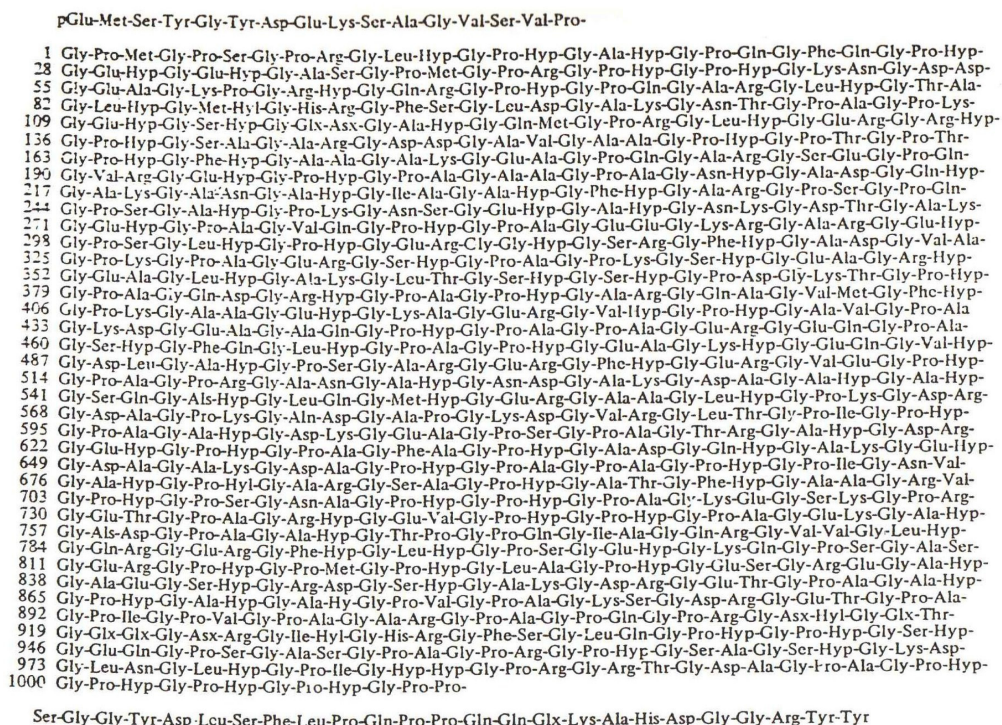


Fig. 1. The amino acid sequence of the collagen

을 구입하여 사용하였다. 그리고 본 실험에 사용된 단백질 가수분해용 효소는 *alcalase*(Subtilisin EC 3.4.21.62 from *Bacillus licheniformis* 2.4 AU/mg), *neutrased*(EC 3.4.24.28 from *Bacillus amyloliquefaciens*, 0.8 AU/mg)는 덴마크 Novozyme 사의 제품을 구입 사용하였다.

2.2. 콜라겐 펩타이드의 제조

어류 비늘에서 콜라겐 펩타이드를 제조하기 위한 방법은 씨엔에이바이오텍(주)의 제조방법 [19]에 따라 Fig.2 와 같은 제조 공정에 의하여 제조하였다. 어류콜라겐 펩타이드의 원재료인 어류비늘의 조직을 팽윤시키기 위하여 정제수를 이용하여 1:10의 비율로 침지시키고 shaking incubator에서 55~60℃, 200 rpm으로 30분간 교반하였다. 여기에 5% NaOH를 사용하여 pH 7에 맞추고 원재료의 원료대비 0.06%의 *alcalase*

첨가하여 30분간 교반하면서 1차 가수분해시키고, 원료 대비 0.06%의 *neutrased*를 첨가하여 30분간 교반하여 2차 가수분해시켰다. 효소를 이용한 가수분해를 마친 시료는 200 mesh 체를 사용하여 1차 여과 즉 추출액과 잔여물을 분리하였다. 1차 여과된 여액을 감압하에서 cotton filter(10µm)를 사용하여 2차 여과하여 불순물을 제거한 후 여액을 85℃에서 30분 동안 가열하여 남아 있는 효소를 불활성화시키고 콜라겐 펩타이드 용액을 얻는다. 이렇게 하여 얻은 추출액에 액량의 중량대비 0.7%의 활성탄을 첨가하여 shaking incubator에서 50℃, 200rpm의 조건으로 30분 동안 교반하면서 탈색·탈취시켰다. 1차 정제된 콜라겐 펩타이드 추출액을 이온교환수지를 이용하여 추출액에 포함되어 있는 유리아미노산이나 그의 염을 제거하는 2차 정제 즉, 탈이온처리를 하였다. 그리고 추출액을 1 µm의 membrane filter를 사용하여 감압 여과

함으로써 난용성 불순물이 제거된 순수한 수용성 콜라겐 펩타이드를 정제하여 얻었다.

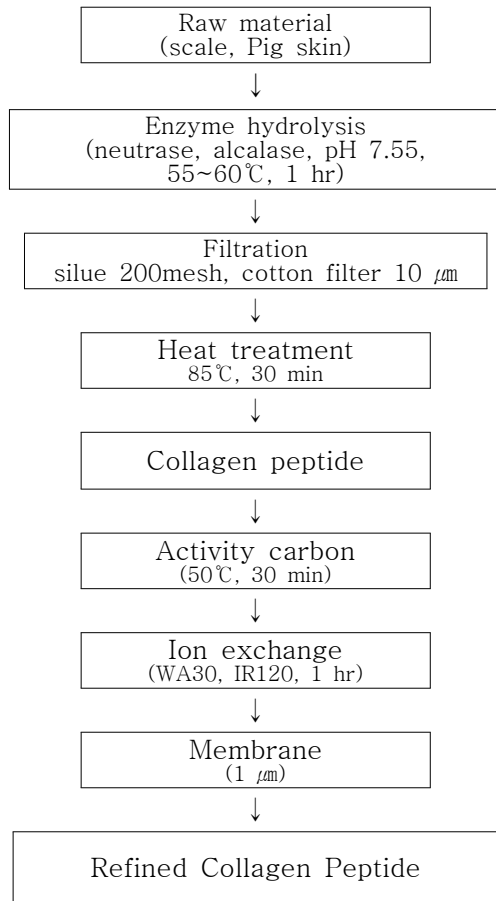


Fig. 2. Production process of collagen peptide.

2.3. 어류콜라겐 펩타이드의 특성 분석

2.3.1. 물리적 특성 분석

추출 정제하여 얻은 어류콜라겐 펩타이드 추출액에 대한 색상, 맛 및 냄새 등에 대한 관능 평가를 실시하였고, pH 및 비중 등, 물리적 특성도 측정하였다.

2.3.2. 영양성분 및 열량분석

어류콜라겐 펩타이드 추출액에 대한 영양성분 분석은 식품 공전 시험법[20]에 준하여 실시

하였고, 조단백 분석은 세미마이크로킬달법으로, 조지방 함량은 에테르 추출법으로 그리고 탄수화물 분석은 벨트란 법으로 분석하였다. 열량 분석은 에크워터계수를 사용하여 계산하였으며 영양성분을 분석한 결과에 의하여 콜라겐 펩타이드 중 어류 비늘에서 추출한 것에는 조단백질 함량에 4.27의 에너지 환산계수, 돈피젤리틴에서 추출한 경우는 조단백질 함량에 3.90의 에너지 환산계수 등을 곱하여 열량계산을 하였고, 그 외 조지방 및 탄수화물 함량에 8.37 및 3.57의 각각의 에너지 환산계수를 곱하여 그 합을 총열량으로 환산하였다.

2.3.3. 아미노산 조성분석

어류콜라겐 펩타이드 추출액에 대한 아미노산 조성 분석은 PITC 라벨링 한 후에 Automated Amino Acid Analyzer에 의해 Waters 510 HPLC을 이용해서 행하였고, 추출 및 전처리 방법은 시료 중 1000 μ l를 취하여 PICO-tag 방법을 이용하여 가수분해 및 PITC 라벨링을 한 후 시료 400 μ l중에서 20 μ l를 취하여 HPLC에 로딩하여 크로마토그램을 얻었다. 분석조건은 Table 1과 같다.

2.3.4. 분자량 분석

정제된 어류콜라겐 펩타이드 추출액에 대한 분자량 측정은 MALDI-TOF Mass Spectrometer (Voyager-DETMSTR Spectrometer, Perseptive Biosystems, USA)를 사용하여 분석하였다.

2.4. 어류콜라겐 펩타이드의 생리활성 측정

총 폴리페놀 함량 측정은 Folin-Ciocalteu Reagent가 추출물의 폴리페놀성 화합물에 의해 환원되어 몰리부덴 청색으로 발색하는 원리를 이용하여 분석하였다[21]. 총 flavonoid 함량 측정은 250 μ l에 증류수 1 ml와 5% NaNO_2 75 μ l를 가한 다음 5분 후 10% $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 150 μ l를 가하고 6분 방치한 뒤 1N NaOH 500 μ l를 가하였다. 11분 후 흡광도 값을 410 nm에서 측정하였다[22].

DPPH(α, α' -diphenyl-picryl hydrazyl) 라디칼 소거능 측정은 DPPH에 의한 전자공여능 측정으로 1×10^{-4} M DPPH(Sigma제, USA) 에탄올 용액 0.8 ml에 시료 0.2 ml를 첨가한 후 520 nm에서 60분 후에 흡광도 감소치를 측정하였

Table 1. Operating Condition for Amino Acid Analysis

Items	Conditions
Model	Waters 310 HPLC pump Waters Gradient Controller Waters 717 Automatic sampler
Column	Waters 996 photodiode array detector(PDA)
Detector	Waters Pico-tag column(3.9300mm, 4 μ m)
Data analysis	Waters 996 photodiode array detector(PDA), 254nm
Reacion amount	Millenium 32 chromatography manager
Injection volume	100 μ l or mg
PITC-labeling volume	50 μ l
Injection amount	400 μ l
	12.5 μ l or mg

다[23].

총 항산화력 측정은 ABTS · +cation decolorization assay 방법에 의하여 측정하였다 [24].

ACE 저해 활성은 ACE(Angiotensin Converting Enzyme, EC 3.4.15.1 1 unit/mg) 1 unit를 0.1M potassium phosphate buffer(pH7.0) 5 ml에 용해시켜 이중에서 80 μ l 씩 (0.2 unit/ml)을 시험관에 취하여 반응시켰다. 기질인 HHL(hippuryl-1-His-1-Leu)은 21.475 mg를 0.1 M potassium phosphate buffer(pH8.3) 10ml에 용해시켜 5 mM HHL 기질용액을 만들고 이중에서 100 μ l씩을 반응에 취하였다. 위의 두 반응액을 취한 후 앞에서 얻어진 가수분해물의 상층액 100 ml가하고 37°C에서 30분동안 반응시켰다. 반응이 끝나면 1N HCl 0.25 ml를 가하여 반응을 정지시키고 ethyl acetate 15 ml를 가하고 15초간 강하게 교반하였다. Ethyl acetate 에 의해 hippuric산이 추출된 상층액을 1 ml 취하여 120°C thermoblock에서 완전히 건조시킨 다음 3차 증류수 1 ml를 가하여 잘 녹인후 228 nm에서 흡광도를 측정한다. 대조실험으로 시료인 가수분해물을 대신하여 멸균수를 넣어 반응시켰다[25].

SOD(superoxide dismutase)유사 활성측정은 각 농도별 시료액 0.2 ml에 pH 8.5로 보정한 Tris HCl buffer(50 mM-tris HCl, 10 mM EDTA) 3 ml와 7.2 mM pyrogallol 0.2 ml를 가하고 25°C에서 10분간 방치하였으며 1N HCl 1 ml 반응을 정지시킨 후 420 nm에서 흡광도를 측정하여 SOD 유사활성을 나타내었다[26].

아질산 소거능은 1 mM NaNO₂ 용액 2 ml에 시료를 가하고 0.1 N HCl (pH1.2), 0.2 M 구연산 완충액 (pH 3.0, 6.0)으로 각각 pH 1.2, 3.0, 6.0으로 보정한 다음 반응액의 부피를 10 ml로 하였다. 이 용액을 37°C에서 1시간 반응시키고 각 반응액 1 ml를 취하여 초산용액과 Griess 시약을 가한 다음 혼합하여 실온에서 15분간 방치한 후 520 nm에서 흡광도를 측정하여 아질산염 소거능을 측정하였다[27].

Linoleic acid model system을 이용한 지질과산화 억제효과 실험은 0.13 % linoleic acid 5 ml, 증류수 2.4 ml, 인산완충액(pH7.0) 5 ml 및 시료 100 ml를 cap tube에 넣고 40°C 항온조에 5일간 보관한 후 지질과산화 정도를 thiocyanate법에 의해서 측정하였다[28].

3. 실험 결과 및 고찰

3.1. 어류콜라겐펩타이드 제조결과

본 논문 2.2의 콜라겐 제조방법에 의하여 효소가수분해물을 얻어 정제하여 어류 비늘(SC, collagen peptide from scale)에서 4%의 농도로 어류콜라겐펩타이드를 제조하였다.

3.2 물리적 특성

제조된 어류콜라겐펩타이드는 비교군인 돈피 젤라틴 콜라겐펩타이드(PC, collagen peptide from pig-skin gelatin)와 동일한 농도로 비교 시 두 가지 모두 가용성 콜라겐펩타이드로 무색 또는 미황색이었고, 원재료의 특유의 독특한

냄새가 있지만 강하진 않았다. pH 범위는 SC는 5.7, PC의 경우 5.5로 약산성이었다.

제조된 어류콜라겐펩타이드(SC, collagen peptide from scale)와 돈피젤라틴 콜라겐펩타이드(PC, collagen peptide from pig-skin gelatin)에 대한 분자량 측정결과를 Fig. 3과 Fig. 4에 나타내었다. 분자량 분포는 Fig. 3과 Fig. 4에서 보는 바와 같이 돈피젤라틴 콜라겐 펩타이드는 1,000~9,900 Da의 넓은 분포 범위를 보이고 있는 반면에 어류비늘 콜라겐 펩타이드는 1,000~7,500 Da의 분자량 분포로서 평균분자량이 약 1,800정도를 보이고 있다. 일반적으로 피부에 흡수 가능한 분자량을 3,000 Da

으로 보고 한 바에 따르면 화장품 소재로 이용할 경우 일부는 피부로 흡수되고 일부는 잔존하겠지만 대부분이 피부의 보습 및 코팅효과가 있을 것으로 본다.

3.3 영양성분 및 열량

위에서 효소 가수분해에 의하여 얻어진 어류콜라겐펩타이드를 본 논문 2.3.2의 방법으로 탄수화물, 조단백, 조지방, 회분 및 수분 등의 영양성분과 열량분석 결과 수분을 제거하고 wet basis로 살펴볼 때 조 단백질인 경우 4.0%이고 탄수화물, 조지방분은 거의 나타나지 않았고, 열량에 있어서는 SC의 경우 145.7 Kcal이고

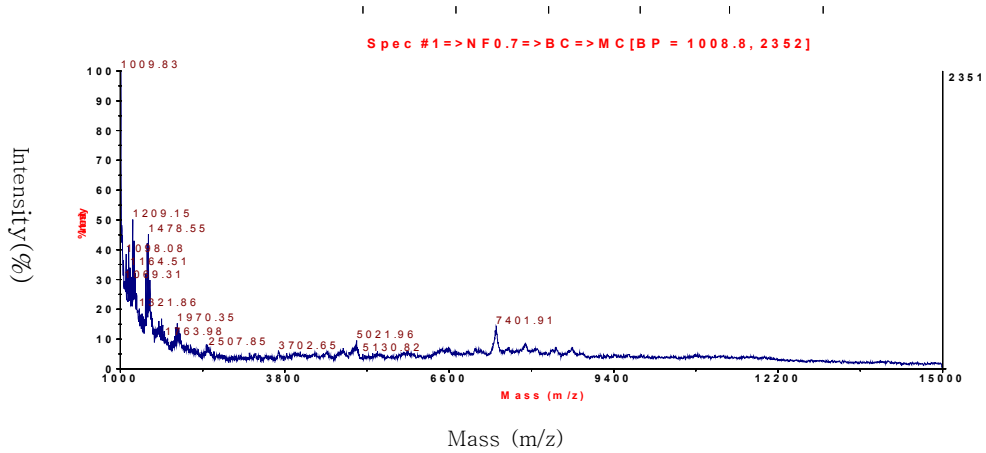


Fig. 3. Distribution of molecular weight on collagen peptide from Scale.

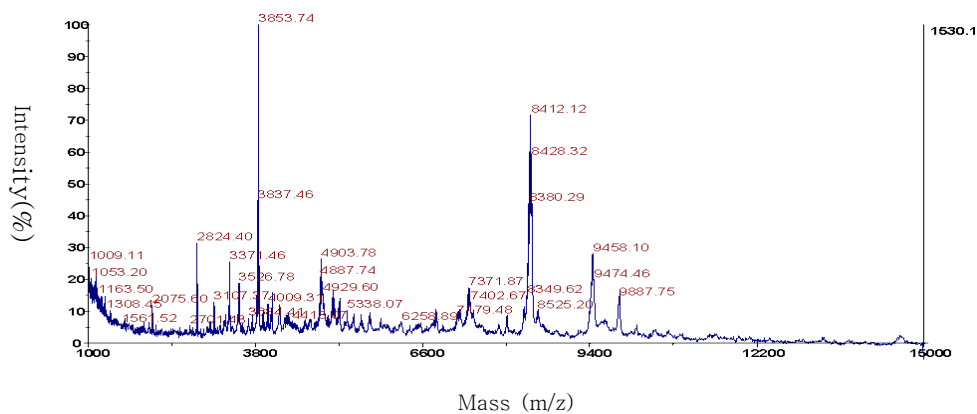


Fig. 4. Distribution of molecular weight on collagen peptide from Pig skin gelatin.

PC의 경우 146.5 Kcal로 거의 차이가 없는 것으로 나타났다.

3.4 아미노산 조성

어류콜라겐 펩타이드에 아미노산의 조성은 Table 2와 같다. Table 2에서 보는 바와 같이 피부의 보습역할을 하는 주된 인자 중의 하나인 hydroxyproline의 함량에 있어서 SC에서는 15.76% PC에서는 9.5%로 나타났으며, Glycine의 함량에 있어서는 SC에서 21.03% PC에서는 32.5%를 보였고, Serine의 함량에서는 SC에서 2.68% PC에서는 4.0% 를 지니고 있는 것으로 나타났다. 즉, SC에서도 PC 못지않게 피부의 탄력과 관계되는 피부 조직의 수복 작용의 역할을 함으로서 화장품 소재로서의 기능을 갖추고 있다. 콜라겐을 식품첨가제로 이용 시 중요한 특성중 하나로 열에 대한 안정성을 들 수 있다. 일반적으로 콜라겐 펩타이드의 아미노산의 구성은 Gly-X-Y 배열이 반복되어 있으며 Gly-X-Y가 Gly-Pro-Hyp 일 때 hydroxyproline 잔기는 pyrroliding 고리의 히드록시 그룹에 의하여 콜라겐 펩타이드 triple helix의 열 안정성을 높여 준다. 아울러 ACE저해활성을 가지는 펩타이드의 아미노산 분석 결과 proline, tyrosine, alanine 및 leucine을 다량 함유하고 있는 것으로 보아 ACE 저해 활성을 가질 것으로 본다.

3.5 어류콜라겐 펩타이드의 생리활성

콜라겐 펩타이드 중 SC와 PC의 생리활성에 대한 시험 결과는 Table 3에 나타내었다. 즉, Folin-Ciocalteu 시약이 콜라겐 펩타이드 추출물의 폴리페놀 화합물에 의해 환원되어 몰리브덴을 청색으로 발색시키는 것을 원리로 콜라겐 펩타이드 SC와 PC의 총 폴리 페놀 함량은 SC인 경우 3.42 mg/g 이고 PC는 5.53 mg/g이었다. 이는 저자가 발표한 식물성 당단백질의 제조 및 유효성 분석[29]에서 나타난 식물성 당단백질의 폴리페놀 함량보다는 낮게 나타났다. 또한 페놀성 화합물이 천연 항산화제, 항돌변 및 항암효과 등 인체에 다양한 생리활성을 나타내고 있는 많은 연구가 보고 되었다[30].

콜라겐 펩타이드의 생리활성에서 총 flavonoid 함량 측정은 보통 탄수화물과 단백질의 배당체로 존재하며 이와 관련된 대표적인 약리 효과 작용에 기초적 자료서 flavonoid가 효소, 호르몬 및 DNA등과 반응하고 증금속과 착제형성 작용이 강해 전자 전달이나 유리라디칼 제거작용을 할 뿐만 아니라 각종 효소작용을 억제하여 모세혈관 투과율을 저하시키는 것으로 총 flavonoid 함량을 수치적으로 나타내는 것이다. 본 연구에서 SC는 1.46 mg/g 이고 PC는 1.59 mg/g으로 이는 전보에 보고한 식물성 당단백질[29]보다 낮은 함량을 나타내었다.

지질과산화의 연쇄반응에 관여하는 산화성 활성 유리라디칼에 전자를 공여하여 산화를 억

Table 2. Amino Acid Compositions of Collagen Peptides

Amino acid	collagen peptide		Amino acid	Collagen peptide	
	SC	PC		SC	PC
Cystine	0.20	0.02	Tyrosine	0.11	0.34
Aspartic acid	3.02	4.50	Valine	1.80	2.50
Glutamic acid	8.89	7.50	Methionine	0.25	0.70
OH-Proline	15.76	9.50	Cystine-2	0.14	0.11
Serine	2.68	4.0	Leucine	2.70	8.00
Glycine	21.03	32.5	Phenylalanine	1.87	1.00
Histidine	0.81	0.19	Trptophan	0.05	0.09
Arginin	8.31	0.50	Lysine	2.93	2.50
Threonine	2.16	2.00	Other	1.08	-
Alanine	9.30	11.50	Total	100.00	100.00
Proline	16.91	13.50			

SC; Collagen peptide from scale

PC; Collagen peptide from pig-skin gelatin

제시키는 척도인 DPPH라디칼 소거능을 측정 한 결과는 비교군인 BHA(Butylated Hydroxy Anisole)이나 Vitamine E에 비하여 낮았다. 즉, 100 ppm에서 SC는 5.78 %이고 PC는 7.05%이고 500 ppm에서는 SC는 8.43 %이고 PC는 9.01 %로 나타났다. 전자공여작용은 활성 라디칼에 전자를 공여하여 지방질 산화는 물론 인체에서의 활성라디칼을 제어할 수 있기 때문에 이러한 라디칼 소거작용은 인체의 질병과 노화 방지에 중추적 역할을 한다.

콜라겐 펩타이드의 총 항산화활성을 알아보기 위하여 ABTS에 의한 총 항산화 활성을 측정한 결과 SC는 37.10 mgAAeg이고 PC는 73.45 mgAAeg로 SC보다 PC가 약 2배 가량 항산화 활성이 높은 결과를 가져왔다. 이 항산화 활성도는 효소를 이용한 가수분해물을 구성하는 아미노산의 함량보다는 말단에 위치하는 아미노산의 종류에 의해 영향을 받는다.

콜라겐 펩타이드의 ACE저해 활성을 비교하기 위하여 저해 활성을 측정한 결과 300ppm에서 SC는 40.3 %이고 PC는 44.5 %였다. ACE저해 활성에 차이가 나는 것은 효소마다 작용하는 기질의 친화성이 있으며 생성된 펩타이드의 말단기에 위치하는 아미노산이 다르고, 펩타이드의 분자량 및 입체구조에 따라 저해 활성에 영향을 주게 된다.

생체 내 항산화 효소중 하나인 SOD는 세포

내 활성산소를 과산화 수소로 전환시키는 반응을 촉진시키는 효소이며 SOD에 의해 생성된 과산화 수소는 *catalase* 또는 *peroxidase*에 의해 물 분자와 산소분자로 전환되는 효소 중의 하나이다. 이러한 SOD와 똑같은 것은 없지만 유사활성 측정방법이 사용되고 있으며 superoxide anion의 활성을 억제시키는 물질 즉, 널리 이용되고 있는 SOD 유사활성을 측정한 결과 100 ppm에서 SC는 11.4 %이고 PC는 7.6 %인데 반하여 500 ppm에서 SC는 15.8 %이고 PC는 13.8 %였다. 이는 전보에서 밝힌 식물성 당단백질[29]보다 낮았다. 따라서 자연의 항산화 효소 중 하나인 SOD는 세포에 해로운 환원된 산소를 과산화수소로 전환시키는 반응을 촉진시키는 효소로서, superoxide anion의 활성을 억제시킬 수 있는 물질이 SC에도 존재하고 있는 것으로 나타났다.

SC에 함유된 아질산염 소거능 시험을 pH별로 측정한 결과 pH 1.2에서 SC는 24.2 %이고, PC는 34.8 %였다. 또한 pH 6.0에서는 SC의 경우 7.1 %이고 PC는 7.2 %이었다. 콜라겐 펩타이드에 함유된 폴리페놀성 물질들의 아질산염 소거능은 pH 6.0인 경우보다 pH 1.2에서 비교적 높은 수치를 보인 바와 같이 함유된 폴리페놀성 화합물 들이 pH가 낮은 조건에서 보다 안정하고 nitrosoamine의 형성을 효과적으로 억제할 수 있을 것으로 본다.

Table 3. Physiological Activity of Collagen Peptide

Item	SC	PC
Total phenol content (mg/g)	3.42	5.53
Total flavonoid content (mg/g)	1.46	1.59
DPPH scavenging ability(%)		
100 ppm	5.78	7.05
500 ppm	8.43	9.01
ABTS antioxidant capacity (mgAAeg)	37.10	73.45
ACE inhibitory(%)	40.3	44.5
SOD pseudo activity(%)		
100 ppm	11.4	7.6
500 ppm	15.8	13.8
nitrite scavenging ability(%)		
pH 1.2	24.2	34.8
pH 6.0	7.1	7.2
lipid peroxide inhibitory(%)		
3 day	28.9	30.6
5 day	63.8	57.8

SC; Collagen peptide from scale

PC; collagen peptide from pig skin gelatin

linoleic acid 모델 시스템을 이용한 지질과산화 억제효과는 1, 3 및 5일의 경과 시간에 따라 측정된 결과 3일 경과인 경우 SC는 28.9 %이고 PC는 30.6 %이었고, 5일 경과 후인 경우 SC는 63.8 %이고 PC는 57.8 %였다. 이는 비교군인 BHA와 vitamine E보다 지질과산화 억제효과가 높고 경과시간에 따라 약간 차이는 있었지만 증가되는 경향을 가져왔다. 일반적으로 페놀성 화합물이 지질과산화를 방지하고 유리지방산기를 소거하는 작용을 지니고 있는 것으로 미루어 볼 때 콜라겐 펩타이드에 함유된 페놀성 화합물에 의해 지질과산화 억제효과가 나타난 것으로 여겨진다.

4. 결론

본 연구를 수행한 결과 얻은 결론은 다음과 같다.

1. 해양성 재료인 어류비늘인 tilapia 종의 비늘을 사용하여 *alcalase* 및 *neutrase* 등 단백질 가수분해 효소를 이용하여 분자량이 1,000 ~ 7,500 Da의 분자량 분포로서 평균분자량이 약 1,800정도를 보이는 어류 콜라겐펩타이드(SC, collagen peptide from scale)의 제조 방법을 확립하였다.
2. SC에 대한 물리적 특성은 무색 또는 미황색의 원재료 특유의 냄새를 지니는 것이 PC와 비슷한 경향을 나타내었고, 영양성분 및 열량에 있어서도 모두 단백질로서 탄수화물, 조지방분은 나타나지 않았고, 열량에 있어서는 SC의 경우 145.7 Kcal이고 PC의 경우 146.5 Kcal로 거의 차이가 없는 것으로 나타났다.
3. 아미노산 조성으로 볼 때 피부의 보습과 탄력에 영향을 주는 아미노산 성분으로서 Hydroxyproline, Glycine, Serine의 함량은 SC에서 PC 보다는 조금 낮은 함량을 보였지만 SC에서도 PC 못지않게 피부의 탄력과 관계되는 피부 조직의 수복 작용의 역할을 할 수 있는 화장품 소재로서의 기능을 갖추고 있었다.
4. 콜라겐 펩타이드의 생리활성 시험으로 총 폴리페놀 함량, 총 flavonoid 함량, DPPH 라디칼 소거능, ABTS에 의한 항산화력, ACE 저해활성, SOD유사활성, 아질산염 소거능 및

지질과산화 억제효과를 비교 검토한 결과 콜라겐 펩타이드의 특징인 hydroxy proline와 glycine의 함량이 높고 가용성 콜라겐으로서 생리활성 효과가 우수한 것으로 나타났다.

참고문헌

1. Miyata, T., "Basic properties of collagen", *Fragrance Journal*, **17**, 90-96(1989).
2. Jeyanthi, R., Nagarayan, B., & Rao, K.P., "Solid tumour chemothrapy using implan-table collagen poly (HEMA) hydrogel containing 5-fluorouracil". *J. of Pharmarcy & Phamacology*, **43**, 60-62 (1991).
3. 김세권, "생선 껍질의 고도 이용기술 개발; 생선껍질 젤라틴의 추출정제 및 이용방안", *수산계* **42**, 57-65(1993).
4. Sadowska, M., Kolodziejska, I., and Niecikowska, C., "Isolation of collagen from skins of Baltic cod (gadus morhua)". *Food Chem.*, **81**:257-262 (2003).
5. 박찬호, "Surimi 가공 부산물로부터 추출한 콜라겐 및 젤라틴의 기능 특성 및 이용" 경상대학교 대학원 석사학위 논문 (2006).
6. Miller, E. J. "Structural studies on cartilage collagen employing limited cleavage and solubilization with pepsin". *Biochemistry*. **11**:4903 (1972).
7. 김세권, 이현철, 변희국, 전유진, "가자미 젤라틴 가수분해물로부터 항산화성 펩티드의 분리·정제 및 특성" *J. Korean Fish. Soc.* **29(2)**, 246-255 (1996).
8. Nakamura, Y.N., Iwamoto, H., Ono, Y., Nishimura, S., & Tabata, S. "Relationship among collagen amount, distribution and architecture in the M. Longgissimus thoracis and M. pectoralis profundus from pigs" *Meat Science*, **64**, 43-50 (2003).
9. 윤호동 외 5인., "불가사리에서 얻은 톨라겐의 상업적 이용 기술 개발", 국립 수산과학원, 최종 연구보고서(2004).
10. 양승용 외 3인., "도계 부산물로부터 유용콜라겐의 제조 및 그의 가능성", 한국 식품개발연구원, 최종 연구보고서(2002).

11. Zhong-Ji, "황소개구리의 껍질 및 육 콜라겐의 분리 정제 및 특징", 북경대학(2004).
12. 박형기, "돈피 콜라겐의 특성과 기능성", 한국 중축개량협회, **69** (2005).
13. Kittiphattanabawon, P., Benjakul, S., Visessanguan, W., Nagai, T & T, Munehiko., "Characterisation of acid-soluble collagen from skin and of bigeye snapper(Priacanthus tayenus)", *Food Chemistry*, **89**, 363-372 (2005).
14. Muyonga, J. H., Cole C.G.B & Duo여, K. G., "Characterisation of acid soluble collagen from skins of young and adult Nile perch (Lates niloticus)", *Food Chemistry*, **85**, 81-89 (2004).
15. Yoshimura, K., Terashima, M., Hozan, D & Shirai, K., "Preparation and dynamic viscoelasticity characterization of alkali-solubilized collagen from shark skin", *Journal of Agriculture & Food Chemistry*, **48**, 685-690 (2000).
16. Nagai, T & Suzuki, N, " Isolation of collagen from fish waste material-skin, bone and fines", *Food Chemistry*, **76**, 277-281(2000).
17. Kolodziejaska, I., Sikorski, Z. E & Niecikowska, C. "Parameters affecting the isolation of collagen from aquid (Illex argentinus) skins", *Food Chemistry*, **66**, 153-157(1999).
18. "황다랑어 등껍질로부터 콜라겐의 추출 및 물리화학적 특성", 부경대학교 대학원 석사 학위 논문(2006).
19. 장부식, 이미지진 국내특허, 제 0488913호 (2003).
20. 한국 식품공업 협회, 식품공전, 서울 문영사 (2003).
21. Kang, Y. H., Park, Y. K. and Lee, G.D., " The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds", *Kor. J. Food Sci. Technol.*, **28(1)**, 232 (1996).
22. Teresa-Satue, M., Huang, S.W. and Frankel, E.N., "Effect of natural antioxidants in virgin olive oil on oxidative stability of refined, bleached and deodorized olive oil", *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, **72(4)**, 1131 (1995).
23. Blois, M.S., "Antioxidant determination by the use of a stable free radical", *Nature*, **26**, 1199 (1958).
24. Leong L.P., Shiuin, G., "An investigation of antioxidant capacity of fruits Singapore makets ", *Food Chem.*, **76**, 69 (2002).
25. Do, J.R., Heo, I.S., and Jo, J.H., "Effect of antihypertensive peptides originated from various marine protein on ACE inhibitory activity and systolic blood pressure in sponaneously hypertensive rates", *Kor. J. Food Sci Technol.*, **38(4)**, 567(2006).
26. Marklund, S., & Marklund, G., "Involvement of superoxide anion radical in the oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase", *Eur. J. Biochem.*, **47**, 468 (1974).
27. Kato, H., Lee, Chuyen, N. V., Kim, S. B. and Hayase, F., "Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins", *Agric. Biol. Chem.*, Vol. 51, pp. 1333 (1987).
28. Osawa, T. and namiki, M. "A novel type of antioxidant isolated from leaf wax of Eucalyptus leaves" *Agric. Biol. Che.*, **45**, 735 (1981).
29. 이미지진, 정노희., "식물성 당단백질의 제조 및 유효성 분석", 한국유화학회지, **26**, 3 (2009)
30. 심영자, 한영실, 전희정., "참죽의 영양성분에 관한 연구", 한국식품과학회지, **24**, 49 (1992).