

피부조직 콜라겐의 DSC 특성

김영호 · 홍상필 · 양 융*

한국식품개발연구원

*연세대학교 식품·생물공학과 및 생물산업소재연구센터

Differential Scanning Calorimetry of Skin Collagen

Young-Ho Kim, Sang-Pill Hong and Ryung Yang*

Korea Food Research Institute

*Department of Food and Biotechnology & Bioproducts Research Center, Yonsei University

Abstract

Transition temperature(T_m) and enthalpy(ΔH) were examined by means of DSC to obtain basic information on heat stability of skin tissue collagen. From DSC properties of insoluble collagen on hydration time and moisture content, it was found that moisture content had more effect on structural stability of collagen than hydration time. As moisture content increased, ΔH increased while T_m decreased. DSC properties of acetone dried skin on the variation of age and sex showed higher heat stability in case of male rat and heat stability seemed to be connected with age, as T_m and ΔH increased with age. Meanwhile, DSC properties of salt soluble collagen showed higher values in female rat than in male rat, and the T_m and ΔH decreased significantly with age in female rat. These results seemed to suggest indirectly that collagen structure varied with age or sex in the same tissue.

Key words: collagen, DSC property, skin, rat

서 론

동물체는 노령화됨에 따라 피부, 뼈 등은 탄력성을 잃어가고 근육은 보다 질겨지는데⁽¹⁾. 이러한 현상은 구조단백질인 콜라겐 분자 변화가 주원인인 것으로 알려져 있다. 즉, 노화됨에 따라 콜라겐의 분자간 또는 분자내 교차결합수는 증가하고, 불안정한 환원성 교차결합 형태에서 안정한 비환원성 교차결합의 형태로 변화되어 점차 유연성(flexibility)을 잃어가기 때문인 것으로 해석되고 있다⁽²⁻⁶⁾. 이와같이 나이에 따라 콜라겐의 구조가 변화되면 화학물질이나 효소 등에 대한 내성이 강해지는 것으로 알려지고 있으나, 콜라겐의 열안정성과 동물체의 나이와의 관계는 아직 불분명한 것으로 나타나고 있다.

콜라겐의 열안정성은 DSC(differential scanning calorimetry)를 이용하여 측정할 수 있다. 즉, 열에 의하여 콜라겐 섬유가 unfolding되면 tropocollagen 분자 형성 단계와 tropocollagen 내 intrahelical 수소결합의 개열로 인한 random coil 형성 단계로 나눌 수 있는데, unfolding시 요구되는 에너지와 unfolding이 개시되는 온도에

따라 열안정성(thermal stability)을 예측할 수 있다⁽⁷⁾. 이러한 열안정성은 pyrrolidine ring 구조의 아미노산, 특히 Hyp(hydroxyproline)과 밀접한 상관성이 있는 것으로 보고된 바 있으나^(8,9), 동물체의 나이에 따른 DSC 특성 변화에 대한 연구 보고는 부족한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 수화에 따른 DSC 특성과 동물체의 나이 및 성별에 따른 DSC 특성을 통하여 피부조직 콜라겐의 열안정성에 대한 기초자료를 얻고자 하였다.

재료 및 방법

실험 재료

생후 3주령, 6주령, 9주령, 12주령, 28주령 및 52주령된 Sprague-Dawley계 흰쥐 암컷과 수컷을 각각 10마리 이상씩 분양받아 피부조직을 채취하였으며, 피부조직 중에서 등(back) 부위만 실험에 사용하였다.

Acetone dried skin, 염가용성, 산가용성 및 불용성 콜라겐의 조제

Harkness와 Nimni의 방법⁽¹⁰⁾을 약간 수정하였다. 털을 제거한 피부조직을 1/8 in. plate로 chopping하여 -20°C로 유지된 acetone 5배량을 가하여 실온에서 30~60분간 방치한 후 감압여과하였다. 여과액이 투명해질 때까지 acetone 처리를 반복하였으며, 이때 얻은 cake를

Corresponding author: Young-Ho Kim, Korea Food Research Institute, San 46-1 Baekhyun-dong, Boondang-gu, Seongnam-si, Kyonggi-do 463-420, Korea

상온에서 1~2시간 풍건하였다. 건조물의 일부를 acetone dried skin으로 명명하여 DSC 분석을 실시하였고, 일부는 염가용성, 산가용성 및 불용성 콜라겐의 추출에 사용하였다. 즉, 건조 시료의 20배량에 해당되는 0.15M NaCl 용액을 가하여 균질기(Ace AM-7 Homogenizer, Nihonseiki Kaisha, Japan)로 12,000 rpm에서 5분간 균질화시킨 다음 4℃에서 24시간 동안 교반하였다. 30,000 ×g에서 90분간 원심분리(Sorvall RC28S, Du Pont, USA)하여 상등액을 버리고 침전물만 모은 다음, 20배량의 0.5M NaCl을 가하여 4℃에서 24시간 동안 교반한 후에, 7,000×g에서 20분간 원심분리하여 얻은 상등액을 거름종이(Whatman No.1)로 거른액을 염가용성 콜라겐으로 하였다. 이때 남은 침전물에 20배량의 0.5M citrate buffer(pH 3.6)를 가하여 4℃에서 24시간 동안 stirring 하였으며, 7,000×g에서 20분간 원심분리하여 얻은 상등액을 거름종이(Whatman No.1)로 거른액을 산가용성 콜라겐으로 하였으며, 침전물을 crude 불용성 콜라겐(이하 불용성 콜라겐)으로 하였다.

상기의 방법으로 조제한 염가용성 콜라겐, 산가용성 콜라겐 및 불용성 콜라겐을 cellulose 투석막(MWCO 10,000)으로 투석한 후 동결건조하였으며, -30℃ 이하에서 보관하여 실험에 사용하였다.

DSC(Differential scanning calorimetry) 분석

콜라겐의 DSC 특성을 살펴보기 위하여 Tm(transition temperature)과 ΔH(enthalpy)를 측정하였다. 수화율과 수화시간에 따른 피부조직 콜라겐의 DSC 분석은 12주령의 수컷에서 조제한 불용성 콜라겐을 이용하였다. 즉, 동결건조된 콜라겐 시료 5~10 mg을 stainless steel pans에 주입, 증류수로써 수화율을 20~80%로 조절한 다음 밀봉하여 수화시간에 따른 DSC 분석을 실시하였다. 한편, 콜라겐 종류, 주령 및 성별에 따른 DSC 특성은 수화율을 80%로 조절하여 측정하였는데, acetone dried skin과 불용성 콜라겐은 증류수를, 그리고 산가용성 콜라겐과 염가용성 콜라겐은 50 mM sodium citrate buffer (pH 6.0)를 사용하였다. 밀봉된 stainless steel pan을 4℃에서 16시간 동안 방치하여 충분히 수화시킨 다음 DSC 분석을 실시하였다. DSC 분석은 Perkin Elmer DSC-4 (USA)를 이용하여 30~150℃까지 10℃/min의 속도로 가열하였으며, 콜라겐 시료의 output sensitivity에 따라 0.5~2 mcal/sec로 scanning하여 DSC 변화를 측정하였다.

결과 및 고찰

수화시간 및 수화율에 따른 불용성 콜라겐의 DSC 특성

콜라겐 구조와 수분과의 관계에서 Hoeve와 Kakivaya⁽¹¹⁾는 콜라겐에 존재하는 수분에 대하여 콜라겐이 nonpolar surface로 작용하는 것으로 해석했던 반면, Fung과 Cox⁽¹²⁾는 수화된 콜라겐에서의 물분자 운동이 주로 polar

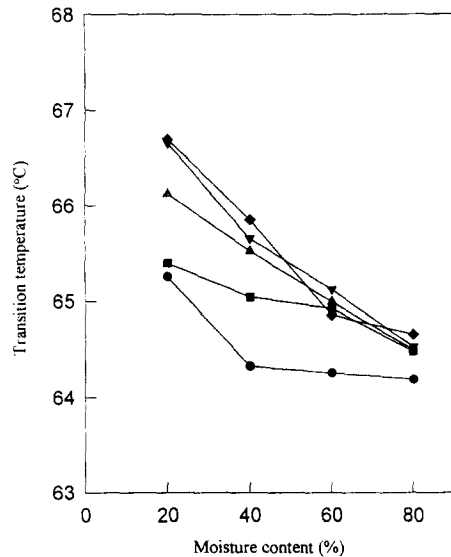


Fig. 1 Transition temperature of the insoluble collagen of 12 week-old male-rat skin according to moisture content

●—●, 0 hr hydration time; ■—■, 8 hr hydration time; ▲—▲, 16 hr hydration time; ▼—▼, 24 hr hydration time; ◆—◆, 48 hr hydration time.

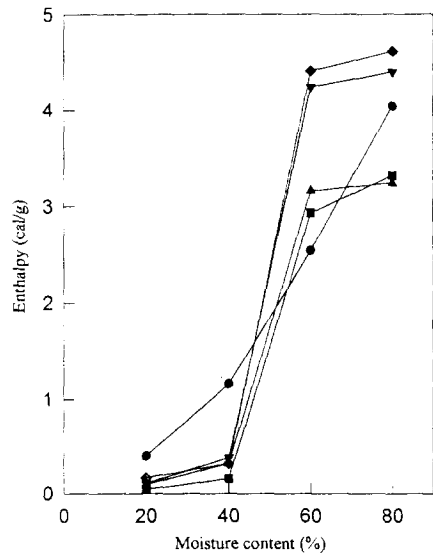


Fig. 2 Enthalpy of the insoluble collagen of 12 week-old male-rat skin according to moisture content

interaction에 의존하는 것으로 해석하는 등 상반된 견해를 보이고 있지만 콜라겐의 열용량은 수분함량과 밀접한 관련이 있다는 것이 일반적인 견해이다. 즉, Hoeve와 Kakivaya⁽¹¹⁾는 콜라겐이 수화될 경우 콜라겐의 열용량은 수분함량에 따라 증가하는 것으로 보고하였으

Table 1. Correlation coefficients of the moisture content versus thermal properties of the insoluble collagen of 12 week-old male-rat skin

Hydration time (hr)	Correlation coefficients (r)	
	Tm (°C)	ΔH (cal/g)
0	-0.841	0.990
8	-0.979	0.927
16	-0.999	0.915
24	-0.989	0.917
48	-0.970	0.912

Table 2. Correlation coefficients of the hydration time versus thermal properties of the insoluble collagen of 12 week-old male-rat skin

Moisture content (%)	Correlation coefficients (r)	
	Tm (°C)	ΔH (cal/g)
20	0.876	-0.309
40	0.855	-0.482
60	0.466	0.915
80	0.860	0.632

며, Yang과 Rupley⁽¹³⁾는 수화 정도에 따른 고분자의 변화 단계로서 수분 흡착에 의하여 고분자의 subsystem 구조가 변하는 단계(수화율 5% 이내), 고분자의 구조변형이 일어나지 않고 직선적으로 열용량이 증가하는 단계(수화율 10~30%), 고분자의 표면이 완전히 수화되는 단계(수화율 30~40%) 및 고분자의 구조변형과 함께 수분함량에 따라 열용량이 증가하는 단계(수화율 40% 이상) 등으로 나누었다. 수화에 따른 콜라겐 분자의 구조 변형은 콜라겐 분자의 부피 분률(specific volume fraction)에 기인하는데 수화시간이 길어질수록 specific volume은 줄어드는 것으로 보고된 바 있다⁽¹⁴⁾.

산, 알카리, 효소 등의 처리에 저항성(resistance)이 강한 것으로 알려진 불용성 콜라겐은 콜라겐 분자간 또는 콜라겐 섬유간에 형성된 교차결합으로 인하여 콜라겐의 수화현상과 이에 따른 콜라겐 구조 변형을 설명하는데 중요한 수단이 될 수 있다.

12주령 흰쥐 피부조직에서 조제한 불용성 콜라겐의 수화시간 및 수화율에 따른 DSC 특성은 Fig. 1, 2 및 Table 1, 2와 같으며, 수화시간과 수화율에 따라 Tm(transition temperature) 64.2~66.7°C, ΔH(enthalpy) 0.1~4.6 cal/g의 범위를 보였다.

수화시간이 일정할 경우, 수화율에 따른 불용성 콜라겐의 DSC 특성은 수화율이 증가할수록 콜라겐의 Tm은 낮아졌고 ΔH는 증가하였는데, 특히 수분함량 60%에서 ΔH가 급격히 증가하였다. 이러한 현상은 수분에 의하여 콜라겐의 수분 흡착과 swelling 현상이 수반되고, 이에 따라 콜라겐 구조가 변형되었기 때문인 것으로 생각되었다. 즉, 수분함량이 증가됨에 따라 수분에 의한 콜라

Table 3. Thermodynamic properties of the acetone dried skin according to aging

Age (weeks)	Tm (°C)		ΔH (cal/g)	
	Female	Male	Female	Male
6	63.24(0.32) ^a	64.60(0.48) ^a	6.06(0.36) ^a	8.38(0.06) ^a
9	65.68(0.47) ^b	65.95(0.21) ^{ab}	9.37(0.17) ^b	9.74(0.31) ^{ab}
12	66.12(0.16) ^b	66.19(0.19) ^b	10.09(0.16) ^b	10.64(0.55) ^b
28	—	66.45(0.51) ^b	—	11.10(0.83) ^b
52	65.93(0.50) ^b	—	9.05(0.51) ^b	—

*Values in parenthesis refer to standard deviation

*Values with the different superscript in the same column are significantly different (p<0.05)

겐의 swelling이 일어나고, 콜라겐 3중 나선구조가 풀어 지기 쉬운 상태로 전이되었기 때문에 Tm이 낮아진 것으로 예상되었으며, ΔH가 증가한 것은 Hoeve와 Kakiyaya⁽¹¹⁾가 보고한 바와 같이 수분에 의한 열용량 증가가 주원인일 것으로 생각되었다.

수화율이 일정할 경우, 수화시간이 길어질수록 Tm이 증가하였는데 이는 수화율 및 수화시간이 콜라겐의 specific volume에 영향을 주었기 때문인 것으로 생각되었다. Tm과 ΔH와의 관계는 Table 1, 2에서와 같이 수화시간과 뚜렷한 상관성을 보이지 않았으나 수화율과 높은 상관 관계를 유지하고 있어, 수화율이 콜라겐의 구조변화에 미치는 영향이 큰 것으로 나타났다. 이러한 현상은 조직의 종류가 다른 bovine achilles tendon에서 조제한 불용성 콜라겐에서도 유사하게 나타내고 있어(data not shown), 콜라겐의 종류에 관계없이 공통적으로 일어나는 콜라겐 고유의 물성으로 예상하였다.

한편, 콜라겐의 수화가 충분히 진행된 것으로 예상하였던 수화율 80%, 수화시간 48시간의 조건으로 처리한 콜라겐의 DSC 특성을 비교할 때, 불용성 콜라겐의 Tm과 ΔH는 동일 주령의 acetone dried skin의 Tm, ΔH에 비하여 다소 낮았으나(Table 3), 염가용성 콜라겐의 경우(Table 4)보다 높은 것으로 나타났다. 이러한 결과는 콜라겐이 열, 산, 알카리 등의 외부 환경에 영향을 적게 받는 구조단백질을 고려할 때 불용성 콜라겐이 콜라겐 구조 안정성에 미치는 영향이 클 것으로 예상되었다.

주령 및 성별에 따른 콜라겐의 DSC 특성

Tm은 Hyp 함량⁽⁹⁾, mucopolysaccharides의 존재⁽¹⁵⁾, 수용액의 pH와 이온조성⁽¹⁶⁾, 콜라겐 농도⁽¹⁷⁾, 연령^(18,19), 교차결합의 종류, 위치, 양^(19,20), 수화 정도⁽²¹⁾ 등과 같은 여러가지 요소에 영향을 받기 때문에, 본 실험에서는 pH, 이온강도, 가수량 및 가수시간을 일정하게 하여 acetone dried skin과 염가용성 콜라겐의 주령에 따른 DSC 변화를 측정하였다(Table 3, 4).

Acetone dried skin의 DSC thermogram은 30~140°C 범위의 scanning 온도에서 단일 peak를 보였으며, 단일 peak로 나타난 각 주령별 DSC 특성은 Table 3과 같다.

Table 4. Thermodynamic properties of the salt soluble collagen according to aging

Age (weeks)	1st peak				2nd peak			
	Tm (°C)		ΔH (cal/g)		Tm (°C)		ΔH (cal/g)	
	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male
3	56.28 ^c (0.15)	55.51 ^a (0.41)	4.45 ^d (0.01)	3.76 ^b (0.21)	—	98.64(0.37)	—	0.92(0.02)
6	55.64 ^b (0.05)	55.13 ^a (0.10)	4.11 ^c (0.11)	3.71 ^b (0.17)	98.85(0.20)	101.39(0.20)	0.91(0.02)	1.12(0.03)
9	55.46 ^b (0.23)	54.78 ^a (0.05)	1.30 ^b (0.12)	1.27 ^a (0.10)	102.45(0.41)	103.98(0.83)	1.02(0.04)	1.19(0.02)
12	55.18 ^b (0.02)	54.63 ^a (0.14)	1.06 ^b (0.02)	0.94 ^a (0.12)	102.06(0.15)	103.30(0.50)	0.95(0.03)	1.03(0.05)
28	—	54.59 ^a (0.31)	—	0.86 ^a (0.01)	—	101.90(0.61)	—	0.95(0.01)
52	54.29 ^a (0.01)	—	0.66 ^a (0.07)	—	100.79(0.33)	—	0.87(0.04)	—

*Values in parenthesis refer to standard deviation

*Values with the different superscript in the same column are significantly different (p<0.05)

암컷의 경우 Tm은 63.2~66.1°C, ΔH는 6.1~10.1 cal/g을 나타냈으며, 수컷의 경우 Tm은 64.6~66.5°C, ΔH는 8.4~11.1 cal/g을 나타냈다. 전반적으로 암컷에 비하여 수컷의 DSC 특성 값이 비교적 높았는데, 이는 암컷에 비하여 수컷의 열안정성이 높다는 것을 시사하였으며, Tm 63.2~66.5°C 범위는 소(bovine) 사후강직 근육조직 내의 콜라겐 Tm⁽²²⁾과 유사하고 염소 IMC(intramuscular collagen)의 Tm⁽¹⁹⁾보다는 높은 것으로 나타나고 있어 동물의 종류, 조직형태 등에 따라 열안정성에 차이가 있음을 보였다. 한편, King⁽²³⁾은 epimysium과 intramuscular 콜라겐에서의 Tm이 나이에 따라 증가한 것으로 보고한 바 있는데, 본 실험에서도 피부조직 콜라겐의 Tm과 ΔH가 암수에 관계없이 28주령까지 증가하고 있어 열안정성과 나이와는 밀접한 관계가 있음을 보였다.

Acetone dried skin의 경우와는 달리 염가용성 콜라겐의 DSC thermogram은 30~140°C scanning 온도 범위에서 2개의 peak를 보였으며, 주령별 DSC 특성은 Table 4와 같다.

첫번째 peak의 Tm은 콜라겐 고유의 열변성 peak로 보이는 54.3~56.3°C의 범위에서 나타났다. 전반적으로 수컷에 비하여 암컷의 Tm이 높았는데, 주령이 증가할수록 암컷의 Tm은 유의적으로 감소하는 추세를 보였으나 수컷의 경우는 유의적 차이를 보이지 않았다. 이러한 감소현상은 ΔH 변화에서도 유사하게 나타나고 있다. 즉, 생후 3주령된 염가용성 콜라겐의 ΔH는 암수 각각 4.45 cal/g, 3.76 cal/g이었으나, 주령이 증가할수록 급속히 감소하여 28주령 이하에서는 0.7~0.9 cal/g을 나타냈다. Tm의 경우와 마찬가지로 주령의 증가에 따라 ΔH는 암컷에서는 유의적 차이가 뚜렷하게 감소하였으나, 수컷의 경우는 9주령 이후 유의적 차이를 보이지 않았다.

전반적으로 볼 때, 주령의 증가에 따라 염가용성 콜라겐의 Tm 및 ΔH는 낮아진 추세를 보였던 반면 acetone dried skin의 Tm 및 ΔH는 증가한 경향을 보였는데, 이러한 현상으로 미루어 주령이 증가함에 따라 염가용성 콜라겐의 열안정성이 점차 소실되면서 열에 안정한 다른

형태의 콜라겐으로 물성 전환이 이루어지고 있음을 예상할 수 있었다. 두번째 peak의 Tm은 98.6~104.0°C 온도 범위에서 나타났는데, 이때의 ΔH는 0.9~1.2 cal/g으로서 9주령까지는 이들 DSC 특성값이 증가하였으나, 12주령부터는 감소하는 경향을 보였다. Vinson 등⁽²⁰⁾은 keratin의 phase transition을 77~88°C, 103°C, 114°C 및 135°C의 온도 범위에서 관찰하였는데, 이들은 114°C와 135°C의 phase transition을 water binding sites가 깨지면서 발생하는 peak로 설명하고 있으며, Felix 등⁽²⁴⁾은 130~145°C에서의 흡열반응을 관찰하면서 결합수(bound water)의 증발(vaporization)에 기인한 것으로, Karmas와 DiMarco^(25,26)는 아미노산의 dehydration thermoprofiles을 DSC로 측정하여 소수성 아미노산인 isoleucine, leucine, methionine, valine 등이 물과 semi-crystalline water cage 형태로 결합되어 있고 80~120°C 온도대에서 이러한 결합이 깨지면서 peak가 형성되는데, 82~83°C 부근의 peak를 protein-water system으로, 109°C와 116°C에서의 peak를 isoleucine peak로 해석하고 있다. 이상의 일련의 결과를 근거로 할 때, 98.6~104.0°C 온도 범위에서 나타난 염용성 콜라겐의 peak는 단백질-물 또는 아미노산-물과의 상호작용(interaction)에 의해 형성된 peak로 생각되었으며, 주령에 따라 차이를 보인 것은 아미노산 조성의 차이 또는 구조변화에 기인한 것으로 생각되었다.

산가용성 콜라겐의 DSC thermogram도 염가용성 콜라겐의 경우와 유사할 것으로 예상하였으나, 100~110°C 부근에서의 peak만 주로 관찰되었으며 주령에 따라 Tm과 ΔH 값이 점차 감소하는 경향을 보이고 있었다 (data not shown). 콜라겐 변성온도대로 예상한 50~60°C에서의 peak는 잘 나타나지 않았는데 이는 조제 과정에서 화학변성이 일어났기 때문인 것으로 추정되었으며, 이에 대한 추후 연구가 필요할 것으로 생각되었다.

요 약

피부조직 콜라겐의 열안정성에 대한 기초자료를 얻고

자 DSC를 이용하여 Tm(transition temperature)과 ΔH (enthalpy)를 측정하였다. 수화시간과 수화율에 따른 불용성 콜라겐의 DSC 특성은 수화시간에 비하여 수화율이 콜라겐 구조안정성에 미치는 영향이 큰 것으로 나타났으며, 수화율이 증가할수록 Tm은 낮아지고 ΔH는 증가하였다. 주령 및 성별에 따른 acetone dried skin의 Tm 및 ΔH는 암컷의 경우보다 수컷의 경우가 다소 높았으며, 주령이 증가할수록 Tm과 ΔH가 서서히 증가하고 있어 열안정성은 나이와 관계가 있음을 보여주었다. Acetone dried skin의 경우와는 달리 염가용성 콜라겐의 DSC 특성값은 암컷의 경우가 수컷의 경우보다 다소 높았으며, 암컷의 Tm과 ΔH는 주령의 증가에 따라 유의적으로 감소하는 경향을 보였다. 이러한 결과는 피부조직내에서의 콜라겐 구조는 성별 또는 주령에 따라 달리 변화되고 있음을 간접적으로 시사한 것으로 생각되었다.

문 헌

1. Light, N.D.: The role of collagen in determining the texture of meat. In *Advances in Meat Research*, Pearson, A.M. Dutton, T.R. and Bailey, A.J.(ed), Van Nostrand Reinhold Company, New York, Vol 4, p.87 (1985)
2. Bodwell, C.E. and McClain, P.E.: Chemistry of animal tissues. In *The Science of Meat and Meat Products*, Price, J.F. and Schweigert, B.S.(ed), Freeman, San Francisco, California p.78 (1971)
3. Housey, T.J., Tanzer, M.L., Henson, E. and Gallop, P.M.: Collagen cross-linking: isolation of hydroxy-al-dolhistidine, a naturally occurring cross-link. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **67**, 824 (1975)
4. Moriguchi, T. and Fujimoto, D.: Age-related changes in the content of the collagen crosslink, pyridinoline. *J. Biochem.*, **84**, 933 (1978)
5. Eyre, D.R., Paz, M.A. and Gallop, P.M.: Cross-linking in collagen and elastin. *Ann. Rev. Biochem.*, **53**, 717 (1984)
6. Mechanic, G.L., Katz, E.P., Henmi, M., Noyes, C. and Yamauchi, M.: Locus of a histidine-based, stable trifunctional, helix to helix collagen cross-link: stereospecific collagen structure of type I skin fibrils. *Biochemistry*, **26**, 3500 (1987)
7. Rigby, B.J.: Relation between the shrinkage of native collagen in acid solution and the melting temperature of the tropocollagen molecule. *Biochim. Biophys. Acta*, **133**, 272 (1967)
8. Smith, S.H. and Judge, M.D.: Relationship between pyridinoline content and thermal stability of bovine intramuscular collagen. *J. Anim. Sci.*, **69**, 1989 (1991)
9. Bernal, V.M. and Stanley, D.W.: Stability of bovine muscle connective tissues. *J. Food Sci.*, **52**, 876 (1987)
10. Harkness, R.D. and Nimni, M.E.: Chemical and mechanical changes in the collagenous framework of induced by thiol compounds. *Acta Physiologica Academiae Scientiarum Hungaricae Tomus*, **33**, 325 (1968)
11. Hoeve, C.A.J. and Kakivaya, S.R.: On the structure of water absorbed in collagen. *J. Physical Chem.*, **80**, 745 (1976)
12. Fung, B.M. and Cox, J.A.: The heat capacity of water in hydrated collagen. *Biopolymers*, **18**, 489 (1979)
13. Yang, P.H. and Rupley, J.A.: Protein-water interactions. Heat capacity of the lysozyme-water system. *Biochemistry*, **18**, 2654 (1979)
14. Luscher-Mattli, M.: Thermodynamic parameters of biopolymer-water system. In *Thermodynamic Data for Biochemistry and Biotechnology*, Hinz, H-J(ed), Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, Germany, p.276 (1986)
15. Ward, A.R. and Mason, P.: Influence of proline hydroxylation upon the thermal stability of collagen fragment α1 CB2. *J. Mol. Biol.*, **79**, 431 (1973)
16. Hellauer, H. and Winkler, R.: Denaturation of collagen fibers in NaI, NaCl and water of different pH values as studied by differential scanning calorimetric measurements. *Connective Tissue Res.*, **3**, 227 (1975)
17. Finch, A. and Ledward, D.A.: Shrinkage of collagen fibres: A differential scanning calorimetric study. *Biochim. Biophys. Acta*, **278**, 433 (1972)
18. Moczar, M., Phan Dinh Tuy, B., Moczar, E. and Robert, L.: Structural glycoproteins from rabbit aortic media. *Biochem. J.*, **211**, 257 (1983)
19. Horgan, D.J., Jones, P.N., King, N.L., Kurth, L.B. and Kuypers, R.: The relationship between animal age and thermal stability and cross-link content of collagen from five goat muscles. *Meat Sci.*, **29**, 251 (1991)
20. Vinson, L.J., Masurat, T. and Singer, E.J.: Basic studies in percutaneous absorption. Edgewater, N.J.(ed), Report No. 10, Dec., Lever Bros. Co., p. 1965 (1965)
21. Nomura, S., Hiltner, A., Lando, J.B. and Baer, E.: Interaction of water with native collagen. *Biopolymers*, **16**, 231 (1977)
22. Stabursvik, E. and Martens, H.: Thermal denaturation of proteins in post rigor muscle tissue as studied by differential scanning calorimetry. *J. Sci. Food Agric.* **31**, 1034 (1980)
23. King, N.L.: Thermal transition of collagen in ovine connective tissues. *Meat Science*, **20**, 25 (1987)
24. Felix, W.D., McDowell, M.A. and Eyring, H.: The differential thermal analysis of natural and modified wool and mohair. *Textile Res. J.* **33**, 465 (1963)
25. Karmas, E. and DiMarco, G.R.: Dehydration thermop- profiles of amino acids and proteins. *J. Food Sci.*, **35**, 615 (1970)
26. Karmas, E. and DiMarco, G.R.: Dehydration thermop- profiles of some proteins. *J. Food Sci.*, **35**, 725 (1970)

(1995년 4월 20일 접수)