

## 민태 Frame 단백질 유래의 인산화 및 비인산화 펩타이드가 체내 칼슘 흡수에 미치는 영향

김세권<sup>1</sup> · 전유진 · 변희국 · 박표잠 · 김규형\* · 최영일 · 이연숙\*\*  
부경대학교 화학과, \*키토라이프 기술연구소, \*\*서울대학교 식품영양학과

### Calcium Absorption Acceleration Effect on Phosphorylated and Non-phosphorylated Peptides from Hoki (*Johnius Belengeri*) Frame

Se-Kwon KIM<sup>1</sup>, You-Jin JEON, Hee-Guk BYUN, Pyo-Jam PARK, Gyu-Hyung KIM\*, Yong-Ri CHOI, Yeon-Sook LEE\*\*

Department of Chemistry, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea

\*KITTO LIFE R & D CENTER, Pyungtaek 459-040, Korea

\*\*Department of Food and Nutrition, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

In order to utilize protein hydrolysate produced from hoki (*Johnius belengeri*) frame among many different fish processing wastes, hoki frame peptide (HFP) and phosphorylated hoki frame peptide (PHFP) were prepared, and their calcium absorption accelerating effects were investigated in comparison to control and casein phosphopeptide (CPP). In *in vitro* experiment, HFP and PHFP inhibited calcium phosphate formation as high as 1.5-fold and 2.5-fold, respectively, comparing to control. In addition, the inhibition rate of calcium phosphate precipitation as increasing concentrations of HFP and PHFP was risen and was similar to that of CPP at 2.0 mg/ml of PHFP concentration. In *in vivo* experiment using the rats, the groups fed HFP and PHFP indicated significantly increased calcium content in the femur. In particular, the calcium content in the small intestine of the rat fed PHFP was higher than that of control group by approximately 60%.

**Key words:** calcium absorption, hoki frame peptide, fish processing waste, phosphorylation

#### 서 론

최근 노령화 및 폐경으로 인한 골다공증에 의해 칼슘의 체내 중요성이 대두됨으로써 칼슘의 체내이용률을 높이기 위한 연구가 활발히 진행되고 있다. 일반적으로 칼슘이온은 인산이온과 공존하면 인산칼슘 (calcium phosphate)을 형성하여 침전하게 된다. 생체내에서도 마찬가지로 섭취된 칼슘은 소장에서 과량의 인산이온에 의해 침전되어 체내로 흡수되지 않고 그대로 배설되어 버린다 (齊藤安弘, 1990). 이러한 현상을 방지해주고 있는 물질로는 여러 가지가 알려져 있으나, 그중에서도 카제인의 serine 잔기에 인산기가 결합되어 있는 형태의 칼슘흡수 촉진제인 casein phosphopeptide (CPP)가 가장 대표적이다. 이와 같이 인산화된 펩타이드는 칼슘이온과 이온결합을 형성하여 소장내에서 체내로 칼슘이 흡수되는 것을 촉진시킨다 (Naito, 1986). 이러한 메카니즘에서 보면 펩타이드의 인산화는 칼슘의 체내흡수를 촉진시킬 것이라는 가능성을 제시해 준다.

매년 많은 종류의 부산물들이 수산가공공장에서 어패류 및 갑각류 등을 처리한 후 발생되고 있으며, 이를 활용하려는 연구도 많이 진행되고 있는 추세이다. 가장 대표적인 수산가공폐기물로는 갑각류 껍질, 어피, 어뼈 및 내장 등을 들 수 있다. 최근 다양한 기능성 재료로서 각광받고 있는 갑각류 껍질은 주로 키틴·키

토산의 추출원료로서 활용되고 있으며 (No and Meyers, 1995), 이를 활용하여 여러 가지 산업, 의약 및 식품분야에서 이용되고 있다 (Suzuki et al., 1986; Tsukada et al., 1990; Byun et al., 1992; Kendra and Hadwiger, 1994; Jeon and Kim, 1999). 어피로부터는 젤라틴의 추출 및 이용에 관하여 (Kang et al., 1992; Kim et al., 1993; Kim et al., 1995; Kim et al., 1996), 그리고 어뼈로부터 hydroxyapatite 제조 및 이용 (Lee et al., 1997; Kim et al., 1997; Kim et al., 1998) 등이 있다. 또한 어류 내장으로부터 산업적 응용을 위한 단백질분해효소에 관한 연구 (Simpson et al., 1990; Haard 1992; Haard and Simpson, 1994; Kim et al., 1997)를 비롯하여 여러 가지 독특한 능력을 가진 효소 (Ragnar et al., 1991; Myrnes and Johansen, 1994)들이 추출되어 이용되고 있다.

본 연구자들은 이전의 보고에서, 어류 중 수산가공공장에서 대량으로 사용되고 있는 민태 (hoki, *Johnius belengeri*)의 부산물인 frame으로부터 단백질을 효소적 가수분해물로서 회수하고 (Jeon et al., 1999a), 또 기능성을 개선할 목적으로 생산된 가수분해물의 인산화 (Jeon et al., 1999b)를 시도한 바 있다. 본 연구에서는 전보에 이어 민태 frame 단백질 가수분해물의 새로운 이용방안을 모색하려는 일련의 연구로서, 인산화 및 비인산화 펩타이드들이 생체내 칼슘흡수에 미치는 영향에 대하여 검토하였다.

<sup>1</sup> Corresponding author. Fax : 82-51-628-8147; E-mail : sknkim@mail.pknu.ac.kr

## 재료 및 방법

### 재료

원료는 ㉞대립수산으로부터 민태를 filleting한 후, 남은 잔사인 frame을 제공받아 사용하였으며, 단백질의 인산화를 위해 사용한 sodium trimetaphosphate (STMP)와 소장내 식이 이동의 표준품으로서 사용된 polyethylene glycol (PEG)은 Sigma Chemical Co.로부터 구입하였다. *In vivo* 실험에서, 흰쥐는 서울대학교내 실험 사육장에서 구입하였으며, 실험식이에 사용된 대두 단백질 (isolated soy protein, ISP)은 PP500E (Ralston Purina International Co.), 옥수수 전분은 미원식품(주), 옥수수 기름은 동방유망(주)의 것을 사용하였다. 비타민 혼합물과 무기질 혼합물은 Oriental 酵母工業 (주) (日本)의 AIN-76 형태의 비타민 혼합물과 칼슘을 결핍시킨 무기질 혼합물을 사용하였다. 그 외 실험에 사용된 시약들은 특급제품을 이용하였다.

### 민태 frame 펩타이드의 추출 및 인산화

민태 frame 펩타이드는 Kim et al. (1997)의 방법으로 추출한 참치 유문수 유래 알칼리성 단백질분해효소를 이용하여 민태 frame 단백질을 가수분해시켜 얻었으며, 이를 한외여과막 장치 (ultrafiltration system)를 이용하여 분자량 10 kDa 이하 분획의 펩타이드만을 모아 동결건조한 후 민태 frame 펩타이드 (hoki frame peptide; HFP)의 시료로 사용하였다. 또한 인산화 펩타이드는 Jeon et al. (1999b)의 방법에 따라 10 kDa 이하 분획의 펩타이드를 인산화시킨 후 동결건조하여 인산화 펩타이드 (phosphorylated hoki frame peptide; PHFP)의 시료로 사용하였다.

### 칼슘흡수 촉진효과의 측정

HFP와 그 인산화물인 PHFP에 대하여 *in vitro*에서의 칼슘흡수 촉진효과는 시간 및 시료의 농도변화에 따라 검토하였으며, Naito (1986)의 방법을 이용하여 인산칼슘 형성 후 용액에서의 침전에 미치는 효과를 측정하였다. 즉, 시료 40 µg을 20 mM 인산수소나트륨 (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) 1 ml에 첨가한 후, 20 mM 염화칼슘 0.25 ml를 가하여 37°C에서 0~12시간 동안 반응시킨 다음 이를 원심분리 (1,500×g, 5 min)하였으며, 상층액 중의 유리된 칼슘농도를 ICP (inductively coupled plasma) 분광광도계 (SPS 1200A plasma-spectrometer S II)로 측정하여 상층액 중에 잔존하는 칼슘함량으로 나타내었다. 시료의 농도변화에 따른 칼슘흡수 촉진효과의 실험은 Naito (1986)와 Yamamoto et al. (1994)의 방법을 약간 변형하여 측정하였다. 즉 0~2 mg/ml 되게 농도를 조절한 시료액 0.2 ml에 10 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1 ml를 첨가한 후, 4 mM CaCl<sub>2</sub> 0.25 ml를 가하여 37°C에서 3시간 동안 반응시킨 다음, 이를 원심분리 (1,500×g, 5 min)하고 상층액 중의 칼슘농도를 ICP로 측정하였다. 상층액 중의 가용화 칼슘비율 (%)은 다음의 식으로 계산하였다.

$$\text{가용화 칼슘비율 (\%)} = \frac{\text{상층액 중에 유리된 칼슘량}}{\text{총 칼슘량}} \times 100$$

### 실험동물

HFP 및 PHFP에 의한 흰쥐의 체내 칼슘 이용성에 미치는 영향은 갖 이유한 3주령의 흰쥐 (SD계, male)를 3주간 칼슘결핍식을 급여시켜 칼슘결핍을 유도하였고, 이후 3주간 칼슘이 첨가된 실험식이를 제공하여 조사하였다. 실험식이군은 대조군 (control)을 포함하여 펩타이드 첨가군 (HFP)과 인산화시킨 펩타이드 첨가군 (PHFP)의 3군을 완전 임의배치법으로 1군당 8마리씩 나누어 사육하였으며, 사용된 식이의 조성을 Table 1에 나타내었다. 실험 최종일에는 실험동물을 12시간 절식시킨 다음 식이를 1.5시간 동안 급여시킨 후 흰쥐를 희생시켜 시료를 채취하였다.

실험 종료 4일전까지 매일 동일한 시간에 24시간 동안 수집된 소변을 채취하여 습식회화시킨 후 원자흡광분석기 (AA-6401F, SHIMADZU Co., Japan)로 칼슘함량을 측정하였다. 대퇴골은 무게와 길이를 측정한 후 건식회화법으로 전처리하고 LaCl<sub>3</sub>·7H<sub>2</sub>O 용액으로 희석하여 칼슘함량을 측정하였다. 소장내에서의 칼슘 이용성은 Lee et al. (1980)의 방법을 이용하여 측정하였는데, 소장 내용물을 원심분리하여 (10,000×g, 20min) 가용성 및 불용성 확분으로 나누고, 각각의 칼슘량을 측정하였다. 소장내 식이 이동량을 알기 위하여 가용성 확분 중의 PEG함량을 Hyden (1955)의 탁도법으로 측정하였다.

### 통계처리

모든 결과는 평균 ± 표준오차 (mean ± SE)로 제시하였다. 실험식이 각각의 평균값을 비교하였으며, 유의성 검정은 p<0.05수준에서 Duncan's multiple range test를 실시하였다.

## 결과 및 고찰

*In vitro*에서의 칼슘흡수 촉진효과 체내로 섭취된 칼슘은 위산에 의해 가용화되어 대부분이 소장에서 흡수되는데, 만일 흡수되기 전 소장에 과량의 인산이온이 존재한다면 칼슘은 이와 반응

Table 1. Composition of experimental diets (%)

Ingredients	Control	HFP	PHFP
ISP <sup>1</sup>	20	10	10
HFP <sup>2</sup>	—	10	5
PHFP <sup>3</sup>	—	—	5
Starch	67.8	67.8	67.8
Corn oil	5	5	5
Fiber	0.5	0.5	0.5
Min. Mix. <sup>4</sup>	3.5	3.5	3.5
Vit. Mix. <sup>5</sup>	1	1	1
Cholin chloride	0.2	0.2	0.2
PEG #4000 <sup>6</sup>	2	2	2

<sup>1</sup>Isolated soy protein

<sup>2</sup>HFP : Hoki frame peptide

<sup>3</sup>PHFP : Phosphorylated hoki frame peptide

<sup>4</sup>Mineral mixture (AIN-76)

<sup>5</sup>Vitamin mixture (AIN-76)

<sup>6</sup>Polyethylene glycol (MW 4,000)

하여 인산칼슘을 형성하여 체외로 배출하게 된다 (Heaney et al., 1991; Kitts and Yuan, 1992). 그러므로 이와 같은 침전형성반응을 방지할 수 있는 물질이 필요한데, 아미노산류 및 펩타이드들은 이전부터 이러한 특성을 가지고 있는 것으로 보고되어 왔기 때문에 (Adibi and Soleimanpour, 1974; Hegarty et al., 1982; Galibois and Savoie, 1987), 본 연구에서 민태 frame 단백질 가수분해물 유래 HFP 및 PHFP에 대해서 *in vitro*에서 인산칼슘 침전저지 실험을 통해 칼슘흡수 촉진효과를 검토하였으며, 현재 가장 널리 알려진 칼슘흡수 촉진제인 CPP와 비교하였다.

Fig. 1에는 시간의 경과에 따른 칼슘흡수 촉진효과를 칼슘침전 형성 저지실험을 통하여 상층액 중에 잔존하는 칼슘의 양을 측정하여 나타내었다. 칼슘흡수 촉진제로서 널리 알려진 CPP는 반응시간에 관계없이 상층액 중의 칼슘함량이 2.2 mM로 일정한데 비하여 대조구는 2시간 경과 후 0.8 mM로까지 감소되었다. HFP를 첨가한 경우에는 대조구보다 약 1.5배 증가한 1.2 mM의 상층액 칼슘함량을 나타내었으며, PHFP를 첨가한 경우에는 대조구에 비해 2.5배 증가한 1.9 mM의 칼슘량을 보였다. 이것은 CPP에 비하여 불과 0.3 mM의 차이만을 보여 칼슘흡수 촉진효과가 기대되었다.

민태 frame 펩타이드의 농도변화에 따른 칼슘흡수 촉진효과는 Fig. 2에서 보는 것과 같이, CPP는 0.4 mg/ml 농도 이상에서는 거의 100%의 칼슘 가용화 비율을 보였다. HFP의 경우, 0.4 mg/ml 이상의 농도에서부터 칼슘의 가용화 비율이 증가하기 시작하여 1.0~2.0 mg/ml의 농도에서 약 70~75%로 나타났다. PHFP는 0.2 mg/ml 이상의 농도에서 칼슘 가용화 비율이 증가하기 시작하여 2.0 mg/ml까지 계속해서 비례적으로 증가하였다. 최종농도 2.0 mg/ml에서는 CPP와 동일한 100%의 칼슘 가용화 비율을 나타내었다. HFP가 농도 의존적으로 칼슘흡수효과를 보이는 것은 전보 (Jeon et al., 1999a)에서 밝혀진 바와 같이 칼슘의 흡수효과에

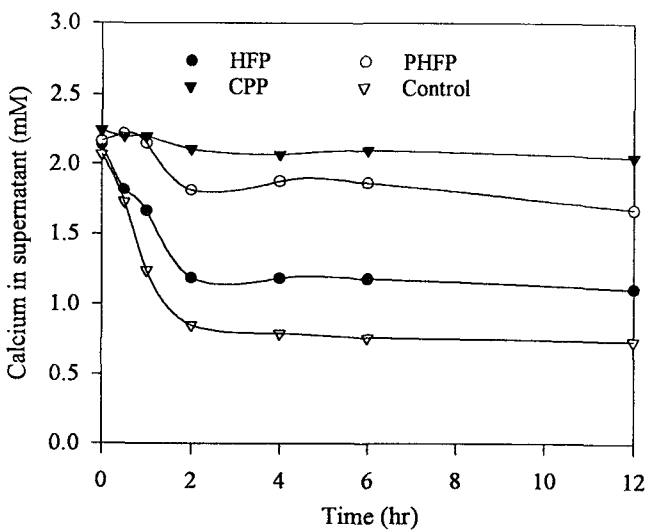


Fig. 1. The effects of hoki frame hydrolysate (HFP), phosphorylated hoki frame hydrolysate (PHFP) and casein phosphopeptide (CPP) on calcium absorption as a function of incubation time for forming calcium phosphate.

관계있는 산성 및 염기성 아미노산의 함량이 전체의 약 30%를 차지하기 때문이라 판단된다. 게다가 PHFP는 음이온성 작용기를 가진 인산기에 의해 HFP의 효과보다 약 20~30% 증가하였고, 결국 2.0 mg/ml의 농도에서는 100%를 보였다. 이와 같은 결과에서, 지금까지 단백질 유래 칼슘흡수 촉진제는 CPP가 유일한 소재로서 이용되었지만, 어류가공 부산물로부터 단백질 유래 칼슘흡수 촉진제의 개발이 가능할 것으로 기대된다.

**In vivo 실험에 의한 칼슘흡수 촉진효과**

HFP 및 PHFP의 체내 칼슘흡수 촉진효과를 확인하기 위하여 3주간 칼슘을 결핍시킨 흰쥐 (SD계, male)를 이용하여 실험하였다.

대퇴골의 무게, 길이와 대퇴골 중 회분, 칼슘의 함량은 Table 2에 제시하였다. 대퇴골의 길이, 중량 및 회분 함량은 실험군 간에 유의적인 차이는 없었으나 HFP와 PHFP를 섭취시킨 흰쥐에서 약간 높게 나타났다. 대퇴골내 칼슘 함량은 PHFP 섭취군이 유익적으로 높게 나타났으며, HFP 섭취군도 대조군에 비해 7.2% 정도 증가하였다. 또한 대퇴골에 함유된 회분 중에서 칼슘이 차지하는 비율을 확인해 본 결과, HFP 및 PHFP 섭취군에서 각각 약 7.5%

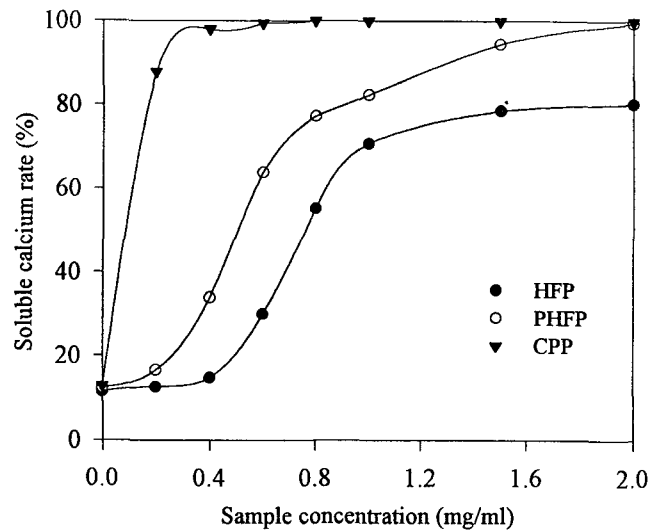


Fig. 2. The effects of HFP, PHFP and CPP on calcium absorption as a function of concentration.

Table 2. The amount of wet weight, length, ash and Ca content in the femur of rats fed HFP and PHFP, respectively

	Wet weight <sup>1</sup> (g)	Length <sup>2</sup> (mm)	Ash (mg/g)	Ca (mg/g)	Ca % (Ca/ Ash × 100)
Control	1.09 ± 0.04 <sup>NS3</sup>	28.2 ± 0.4 <sup>NS</sup>	160.4 ± 7.5 <sup>NS</sup>	64.2 ± 2.3 <sup>b4</sup>	40.1 ± 0.7 <sup>b</sup>
HFP	1.23 ± 0.09	27.9 ± 0.2	164.5 ± 2.7	70.8 ± 1.6 <sup>ab</sup>	43.1 ± 0.7 <sup>a</sup>
PHFP	1.24 ± 0.02	28.3 ± 0.2	166.0 ± 3.2	73.2 ± 3.1 <sup>a</sup>	44.0 ± 0.7 <sup>a</sup>

Values are mean ± SE of 8 rats per group

<sup>1</sup>Total weight of left and right femur

<sup>2</sup>Mean length of left and right femur

<sup>3</sup>NS : Not significantly different

<sup>4</sup>Superscripts with different alphabets in columns are significantly different (p < 0.05)

와 10% 만큼 유의적으로 높게 나타나 인산화 및 비인산화 펩타이드의 섭취가 대퇴골내 칼슘함량을 증가시키는데 유리함을 보였다. 이는 펩타이드들의 인산화 아미노산 잔기에 붙어있는 인산기와 소장내 칼슘이온들이 높은 친화력으로 인해 쉽게 결합하여, 소장에서 같이 흡수되기 때문인 것으로 알려져 있다 (Naito, 1986; 齋藤安弘, 1993).

칼슘의 체내보유량을 알아보기 위하여 소장내용물의 가용성 칼슘 함량을 측정된 결과 (Table 3), HFP 섭취군과 PHFP 섭취군에서 각각 약 1.5배 및 2.5배로 나타나 대조군보다 칼슘함량이 유의적으로 높음을 알 수 있었다. 한편, 불용성 칼슘의 함량은 HFP 섭취군의 칼슘함량이 유의적으로 가장 높았고, PHFP 섭취군은 대조군보다 높게 나타났다. 펩타이드 섭취군에서 불용성 칼슘이 많은 것은 소장내에서 칼슘을 포함하고 있는 식이가 오랫동안 머무르기 때문이며, 민태 frame 펩타이드들이 이러한 과정에도 관여하는 것으로 추측된다.

전체 소장내에 유입된 칼슘 중 수용성칼슘이 차지하는 비율은 HFP 섭취군은 약 26%로 대조군과 거의 차이가 없었으나 PHFP 섭취군은 약 41%로 대조군에 비해 60% 이상 뛰어난 소장내 가용화율을 나타내었다. 그러나 이러한 걸보기 가용화율은 실험동물의 사료섭취량 및 체내이동량에 따라 많은 차이가 나타날 수 있기 때문에, 소장내에서의 칼슘이동량 및 보유율에 대하여 PEG (MW 4,000)를 이용하여 측정하였다 (Lee et al., 1983). 그 결과 Table 3에서와 같이 PEG의 함량은 대조군에 비해 민태 frame 펩타이드에서 유의적으로 높았다. 식이 유래 소장내 칼슘 함량에 대한 소장내 가용성 칼슘 함량 비율 (%)을 보면 대조군에서 20% 정도인데 비해 HFP군에서는 10% 정도로 낮았으며, 펩타이드 섭취로 인한 소장내 칼슘의 가용화 효과는 관찰되지 않았다. 그러나 PHFP를 섭취시킨 군에서는 28%로 나타나 소장내 칼슘의 가용화에 영향을 미칠 수 있음을 보였다. 또, 소장내 존재하는 총 칼슘 (가용성 Ca + 불용성 Ca)에 대한 가용성 칼슘 비율을 관찰한 결과, PHFP를 섭취시킨 군들이 대조군에 대해 약 60% 정도 상승되는 것으로 나타나 인산화된 펩타이드는 소장내 칼슘의 가용화를 상당량 증가시킬 수 있었다 (Lee et al., 1980 ; 1983).

대사실험 기간 4일 동안의 1일 칼슘 섭취량과 뇨중 배설량을 측정된 결과를 Table 4에 나타내었다. 실험군 사이의 칼슘 섭취량

**Table 3. The amount of polyethylene glycol\*, soluble and insoluble Ca in the small intestine contents of rats fed HFP and PHFP, respectively**

	Soluble Ca (mg)	Insoluble Ca (mg)	Soluble Ca (%) <sup>1</sup>	PEG (mg)	Soluble Ca (%) <sup>2</sup>
Control	1.63 ± 0.14 <sup>cd</sup>	4.69 ± 0.31 <sup>b</sup>	25.87 ± 1.46 <sup>b</sup>	35.35 ± 4.37 <sup>b</sup>	20.55 ± 3.53 <sup>ab</sup>
FP	2.41 ± 0.26 <sup>b</sup>	6.87 ± 0.71 <sup>a</sup>	26.18 ± 1.81 <sup>b</sup>	63.45 ± 2.78 <sup>a</sup>	15.18 ± 1.46 <sup>b</sup>
PHFP	3.98 ± 0.12 <sup>a</sup>	5.88 ± 0.42 <sup>ab</sup>	40.58 ± 2.56 <sup>a</sup>	61.82 ± 7.58 <sup>a</sup>	28.20 ± 4.20 <sup>a</sup>

Values are mean ± SE of 8 rats per group

<sup>1</sup>(Soluble Ca/total Ca in intestinal content) × 100

<sup>2</sup>[(Soluble Ca/PEG in the small intestinal content)/(Ca/PEG in diet)] × 100

<sup>3</sup>Superscripts with different alphabets in columns are significantly different (p < 0.05)

\* Polyethylene glycol (PEG) : MW 4000

**Table 4. The amount of the daily calcium intake and urinary calcium excretion of rats fed HFP and PHFP, respectively**

	Ca intake (mg/day)	Urinary Ca excretion (mg/day)
Control	97.6 ± 7.4 <sup>NS,1</sup>	0.73 ± 0.16 <sup>b2</sup>
HFP	115.3 ± 9.5	1.86 ± 0.24 <sup>a</sup>
PHFP	109.7 ± 11.5	1.12 ± 0.23 <sup>b</sup>

Values are mean ± SE of 8 rats per group

<sup>1</sup>NS : Not significantly different

<sup>2</sup>Superscripts with different alphabets in columns are significantly different (p < 0.05)

은 유의적으로는 차이를 보이지 않았으나 HFP 및 PHFP군이 약간 높게 섭취한 것으로 나타났다. 그러나 뇨중 칼슘의 배설량은 PHFP 섭취군에서 비록 유의적인 차이는 보이지 않았지만 대조군보다 약 50% 정도 상승하였다. 게다가 HFP 섭취군은 대조군보다 1.5배 이상 높은 것으로 나타났다. 뇨중의 칼슘배설량은 칼슘흡수 상태를 알려주는 인자의 하나로 체내로 흡수된 칼슘의 양이 증가하면 칼슘의 배설량이 증가한다 (Kerstetter and Allen, 1989; Schaafsma, 1997). 그러므로 민태 유래의 펩타이드들은 칼슘의 흡수에 매우 유리함을 알 수 있었다.

## 요 약

수산가공공장에서 부산물로 대량 생산되고 있는 민태 frame 단백질로부터 회수된 펩타이드의 이용성을 탐색할 목적으로 민태 frame 단백질 유래 펩타이드와 이를 인산화시킨 펩타이드에 대한 칼슘흡수 촉진효과를 칼슘의 침전형성 저지율을 이용한 *in vitro* 실험과 칼슘 결핍 흰쥐를 이용한 *in vivo* 실험으로 검토하였다. 먼저 *in vitro* 실험에서 칼슘의 침전형성 반응시간의 변화에 따른 상층액 중의 칼슘농도는 민태 frame 펩타이드 (HFP)와 인산화시킨 펩타이드 (PHFP)를 첨가한 경우 대조군보다 각각 약 1.5배 및 2.5배 높은 것으로 나타났으며, 펩타이드의 첨가농도에 따른 실험에서도 HFP는 농도가 1.0 mg/ml일 때 가용화율이 70%로 증가하였고, PHFP는 0.8 mg/ml일 때 약 75%, 그리고 2.0 mg/ml일 때는 CPP와 같은 100%로 증가하였다. 흰쥐를 이용한 *in vivo* 실험에서 HFP 및 PHFP 섭취군 모두에서 대퇴골내 칼슘농도가 유의적으로 상승하였으며, 특히 PHFP 섭취군은 소장내 가용성 칼슘의 함유량이 대조군에 비해 약 60% 이상 높았다. 또 소변으로 배출되는 칼슘의 양은 HFP를 섭취한 군이 대조군보다 약 1.5배 높았다. 이들의 결과로부터 어류가공 부산물로부터 단백질 유래의 칼슘흡수 촉진제의 개발이 가능할 것으로 기대된다.

## 참 고 문 헌

- Abidi, S.A. and M.R. Soleimanpour. 1974. Functional characterization of dipeptide transport system in human jejunum. *J. Clin. Invest.*, 53, 1368~1378.
- Byun, H.G., O.J. Kang and S.K. Kim. 1992. Synthesis of the derivatives of chitin and chitosan, and their physicochemical properties. *J. Korean Agric. Chem. Soc.*, 35 (4), 265~271 (in Korean).

- Galibois, I. and L. Savoie. 1987. Relationship between amino acid intestinal effluent in rat and in vitro protein digestion products. *Nutr. Res.*, 7, 65~79.
- Haard, N.F. 1992. A review of proteolytic enzymes from marine organisms and their application in the food industry. *J. Aquatic Food Prod. Dev.*, 1, 17~35.
- Haard, N.F. and B.K. Simpson. 1994. Protease from aquatic organisms and their uses in the seafood industry, In *Fisheries Processing : Biotechnological Applications*, A.M. Martin ed., Chapman & Hall, London, pp. 132~154.
- Heaney, R.P., C.M. Weaver and M.L. Fitzsimmons. 1991. Soybean phytate content : effect on calcium absorption. *Am. J. Clin. Nutr.*, 53, 745~747.
- Hegarty, J.E., P.D. Fairclough, K.J. Moriarty, M.L. Clark, M.J. Kelly, and A.M. Dawson. 1982. Comparison of plasma and intraluminal amino acid profiles in man after meals containing a protein hydrolysate and equivalent amino acid mixture. *Gut*, 23, 670~674.
- Hyden, S. 1955. A turbidimetric method for the determination of higher polyethylene glycol in biological materials. *Kungl. Lantbrukshögskolans Annaler*, 22, 139~145.
- Jeon, Y.J. and S.K. Kim. 1999. Production of chitooligosaccharides using an ultrafiltration membrane reactor and their antibacterial activity. *Carbohydr. Polym.* (in press).
- Jeon, Y.J., B.J. Lee, P.J. Park and S.K. Kim. 1999a. Improvement of the functionalities by phosphorylation of hoki (*Johnius belengeri*) frame protein hydrolysates. *Kor. Soc. Agric. Chem. Biotechnol.*, 42 (2), 128~133 (in Korean).
- Jeon, Y.J., B.J. Lee, H.G. Byun, J.B. Kim and S.K. Kim. 1999b. Recovery of protein hydrolysate from hoki (*Johnius belengeri*) frame with tuna pyloric caeca crude enzyme and its functionalities. *Kor. Soc. Agric. Chem. Biotechnol.*, 42 (1), 49~57 (in Korean).
- Kang, T.J., Y.J. Jeon, S.K. Kim and D.J. Song. 1992. Investigation of pre-treatment method for gelatin preparation from flounder skin. *Bull. Kor. Fish. Soc.*, 25, 93~102 (in Korean).
- Kendra, D.F. and L.A. Hadwiger. 1984. Characterization of the smallest chitosan oligomer that is maximally antifungal to *Fusarium solani* and elicits pisatin formation in *pisum sativum*. *Exp. Mycol.*, 8, 276~281.
- Kerstetter, J.E. and L.H. Allen. 1989. Dietary protein increases urinary calcium. *J. Nutr.*, 210, 134~136.
- Kim, J.S., S.Y. Cho, S.H. Ko, J.H. Ha, S.J. Shin and E.H. Lee. 1993. The suitable processing condition for gelatin preparation from dover sole skin. *J. Korean Agric. Chem. Soc.*, 36 (6), 440~448 (in Korean).
- Kim, S.K., C.B. Ahn and O.J. Kang. 1993. Preparation of imitation sauce from enzymatic hydrolysate of cod skin gelatin. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 22 (4), 470~475 (in Korean).
- Kim, S.K., H.C. Lee, H.G. Byun and Y.J. Jeon. 1996. Isolation and characterization of antioxidative peptides from enzymatic hydrolysates of yellowfin sole skin gelatin. *J. Kor. Fish. Soc.*, 29, 246~255 (in Korean).
- Kim, S.K., H.G. Byun, Y.J. Jeon, C.B. Ahn, D.J. Cho and E.H. Lee. 1995. Functional properties of produced fish skin gelatin hydrolysate in a recycle three-step membrane enzyme reactor. *J. Kor. Ind. & Eng. Chemistry*, 6, 984~996 (in Korean).
- Kim, S.K., J.S. Choi, C.K. Lee, H.G. Byun, Y.J. Jeon and E.H. Lee. 1997. Synthesis and biocompatibility of the hydroxyapatite ceramic composites from tuna bone (II) - The sintering properties of hydroxyapatite treated with wet milling process. *J. Kor. Ind. & Eng. Chemistry*, 8, 1000~1005 (in Korean).
- Kim, S.K., J.S. Choi, C.K. Lee, H.G. Byun, Y.J. Jeon, E.H. Lee and I.Y. Park. 1998. Synthesis and biocompatibility of the hydroxyapatite ceramic composites from tuna bone (III) - SEM photographs of bonding properties between hydroxyapatite ceramic composites in the simulated body fluid. *J. Kor. Ind. & Eng. Chemistry*, 9, 322~329 (in Korean).
- Kim, S.K., Y.J. Jeon, H.G. Byun, Y.T. Kim and C.K. Lee. 1997. Enzymatic recovery of cod frame proteins with crude proteinase from tuna pyloric caeca. *Fish. Sci.*, 63, 421~427.
- Kitts, D.D. and Y.V. Yuan. 1992. Casein phosphopeptides and calcium bioavailability. *Trends in Food Sci. & Technol.*, 3 (2), 31~35.
- Lee, C.K., J.S. Choi, Y.J. Jeon, H.G. Byun and S.K. Kim. 1997. The properties of natural hydroxyapatite isolated from tuna bone. *J. Kor. Fish. Soc.*, 30, 652~659 (in Korean).
- Lee, Y.S., T. Noguchi and H. Naito. 1980. Phosphopeptides and soluble calcium in the small intestine of rats given a casein diet. *Br. J. Nutr.*, 43, 457~467.
- Lee, Y.S., T. Noguchi and H. Naito. 1983. Intestinal absorption of calcium in rats given diets containing casein or amino acid mixture : the role of casein phosphopeptides. *Br. J. Nutr.*, 49, 67~76.
- Myrnes, B. and A. Johansen. 1994. Recovery of lysozyme from scallop waste. *Preparative Biochem.*, 24, 69~80.
- Naito, H. 1986. The mechanism of enhancement in intestinal calcium absorption with phosphopeptides derived during casein digestion. *J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.*, 39 (6), 433~439 (in Japanese).
- No, H.K. and S.P. Meyers. 1995. Preparation and characterization of chitin and chitosan - A review. *J. Aquatic Food Prod. Technol.*, 4, 27~52.
- Ragnar, L., K.O. Kersti. and B. Myrnes. 1991. Alkaline phosphatase from the hepatopancrease of shrimp (*Pandalus borealis*) : A dimeric enzyme with catalytically active subunits. *Comp. Biochem. Physiol.*, 99 B, 755~761.
- Schaafsma, G. 1997. Bioavailability of calcium and magnesium. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 51 (Suppl. 1), S13~S16.
- Simpson, B.K., M.V. Simpson and N.F. Haard. 1990. Properties of trypsin from the pyloric caeca of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *J. Food Sci.*, 55, 959~961.
- Suzuki, K., A. Tokoro, Y. Okawa, S. Suzuki and M. Suzuki. 1986. Antitumor effect of hexa-N-acetylchitohexaose and chitohexaose. *Carbohydr. Res.*, 151, 403~408.
- Tsukada, K., T. Matsumoto, K. Aizawa, A. Tokoro, R. Naruse, S. Suzuki and M. Suzuki. 1990. Antimetastatic and growth inhibitory effects of N-acetylchitohexaose in mice bearing Lewis lung carcinoma. *Jpn. J. Cancer Res.*, 81, 259~265.
- Yamamoto, K., H. Kumagai, A. Suzaki and S. Arai. 1994. Inhibitory activity of oligo- and poly-L-glutamic acids against calcium phosphate insolubilization and calcium binding with special relevance to their molecular weight dependence. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 58 (9) 1662~1665.
- 齋藤安弘. 1990. CPPの生理活性と機能性食品への應用, ジャパンフドサイエンス, 29, 21~32 (in Japanese).
- 齋藤安弘. 1993. CPPとカルシウム吸収, New Food Industry, 35 (9), 1~8 (in Japanese).

1999년 8월 26일 접수

1999년 10월 14일 수리