

승어(*Mugil cephalus*) 비늘의 저분자 콜라겐 펩타이드 추출물이 고지혈증 흰쥐의 혈청 지질대사에 미치는 영향

김한수[†] · 성종환 · 이영근 · Xie Cheng Liang · 최우석 · 김수하 · 윤호동¹
부산대학교 식품공학과, ¹국립수산과학원 식품안전연구단

Effect of Low-Molecular-Weight Collagen Peptide Extract Isolated from Scales of the Flathead Mullet (*Mugil cephalus*) on Lipid Metabolism in Hyperlipidemic Rats

Han-Soo Kim[†], Jong-Hwan Seong, Young-Guen Lee, Cheng-Liang Xie,
Woo-Seok Choi, Su-Ha Kim and Ho-Dong Yoon¹

Department of Food Science & Technology, Pusan National University, Miryang 627-706, Korea,

¹Food & Safety Research Center, National Fisheries Research & Development Institute, Busan 619-902, Korea

Abstract

The objective of this study was to investigate the effects of ingestion of low-molecular-weight collagen peptides on lipid composition, blood glucose level, and enzyme activities in the serum of hyperlipidemic rats fed experimental diets for 5 weeks. Concentrations of total cholesterol, low-density lipoprotein (LDL)-cholesterol, free cholesterol, triglyceride (TG), phospholipid (PL), and blood glucose, the atherosclerotic index, and the cholesteryl ester ratio were higher in serum of the hyperlipidemic group (CW group), and the cholesterol-plus-collagen peptides extract group (CCP group) than in the control group (BG group basal diet plus water). However, the concentrations of total cholesterol, LDL-cholesterol, free cholesterol, TG, PL, and blood glucose, the atherosclerotic index, and the cholesteryl ester ratio in serum were lower in the CCP group than in the CW group. By contrast, the ratio of HDL-cholesterol to total cholesterol and the absolute HDL-cholesterol level in the CCP group were higher than in the CW group. The activities of alkaline phosphatase (ALP) and aminotransferases (AST, ALT) in serum were lower in the CCP group than in the hyperlipidemic CW group. The results indicate that an extract of low-molecular-weight collagen peptides effectively inhibited increases in lipid elevation, blood glucose level, and enzyme activities, in the serum of hyperlipidemic rats.

Key words : Hyperlipidemia, collagen peptide, lipid component, blood glucose, enzyme activity

서 론

콜라겐은 척추동물 및 무척추동물을 구성하는 지지체로서 인체 단백질 총 중량의 30%를 차지하는 중요한 단백질로 피부, 건(tendon), 뼈 및 치아 유기물질의 대부분을 형성하는데, 특히 뼈와 피부(진피)에 그 포함량이 높으며(1), 이 물질은 매우 유용한 생체 재료로서 의약품, 화장품, 식품

산업 등에 광범위하게 활용되고(2-4), 생분해성 및 낮은 항원성 등의 생물학적인 특성 때문에 안전한 생체 적합성을 가진다(5). 일반적으로 소나 돼지 피부 및 뼈에서 추출한 콜라겐과 젤라틴 등이 산업적으로 이용되었으나, 광우병(bovine spongiform encephalopathy, BSE) 및 구제역(foot-and-mouth disease, FMD) 등의 문제가 심각하게 제기됨에 따라 안전성에 주안점을 둔 원료의 수요가 증가되고 있는 추세이다(6).

이외에도 콜라겐에 관한 연구는 불가사리, 오징어, 해파리, 해삼, 홍어 등의 해양 척추동물 및 무척추동물의 결합조

[†]Corresponding author. E-mail : kimhs777@pusan.ac.kr,
Phone : 82-55-350-5351, Fax : 82-55-350-5359

직 및 피부에서 추출한 콜라겐의 연구가 많이 보고되고 있다(7-10). 또한, 많은 수산물 소비하고 있는 우리나라에서는 어패류 가공 처리에 의해 어피, 어두, 어뼈, 내장 및 비늘과 같은 어류가공잔사(비가식부분)가 증가하고 있다(11,12). 가공 부산물인 어류의 비늘 중에 존재하는 콜라겐은 결합단백질로서(13), 어육의 중 및 부위에 따른 차이는 근육 결합조직의 구성 성분으로 기질 단백질의 주요 구성 단백질 때문인 것으로 알려져 있다(14). 한편, 상어의 껍질과 육 조직으로부터 추출한 산 가용성 콜라겐은 항산화성, 항균성을 비롯한 tyrosinase 및 elastase 등의 저해 활성이 우수하다고 보고되고 있다(15).

최근, 생활 습관의 변화와 다양한 식생활로 동물성 식품 및 지방 함유 가공식품 등의 섭취량이 증가함에 따라 고지혈증(hyperlipidemia) 등 생활습관병이 급속하게 증가되고 있다. 고지혈증 발생의 위험 인자는 이상지질혈증으로(16) 혈액 중의 콜레스테롤농도와 중성지질 및 지단백(lipoprotein), 혈장 thromboxane A₂의 형성 등이 지적되고 있다(17). 따라서 본 연구는 수산물 가공 잔사 중 얻어지는 어류 비늘을 보다 효율적으로 이용할 목적으로 가수분해시켜 제조된 저분자 콜라겐 펩타이드를 추출하여 고지혈증을 유도한 흰쥐의 지질대사 이상 등에 의해서 발생하는 생활습관병 예방과 개선 방안을 검토한 후, 기능성 신소재 등의 자원으로 개발 가공할 목적으로 실험을 수행하였다.

재료 및 방법

콜라겐 펩타이드의 제조

부산 자갈치 시장에서 구입한 숭어(gray mullet, *Mugil cephalus*)로부터 비늘을 분리한 다음, 교반기가 부착된 세정기에 넣어 수세를 수회 반복한 후, 원심분리하여 세정한 것을 콜라겐 펩타이드 제조용 시료로 사용하였다. 어류비늘 콜라겐의 제조는 Ogawa 등(18)의 방법을 변형하여 사용하였다. 세정한 비늘을 10배량의 0.1 N 수산화나트륨 용액에 투입하여 24시간 교반한 후 원심분리하여 pH가 중성이 될 때까지 수세한 다음, 시료 중량당 10배량의 0.5 M 초산 용액에 0.1% (w/v) 펩신(EC 3.4.23.1; Showa, Japan)을 가하여 2일간 교반하여 가수분해한 후 25,000 g 에서 30분간 원심분리하였다. 상등액은 3일간 0.02 M Na₂HPO₄ (pH 7.2)에서 투석한 후 동결 건조하여 콜라겐 단백질을 얻었다. 제조한 콜라겐 단백질에 대하여 10배 수의 물을 가하고 단백질 분해효소인 alcalase를 첨가하여 60°C에서 48시간 가수분해한 후, 원심분리하여 잔사를 제거하고 한외여과막(ultrafiltration; Sigma, St. Louis, USA)을 이용하여 석회질의 잔사와 불순물을 제거하였으며, 탈염과 농축을 위하여 다시 nano membrane filtration (Sigma, St. Louis, USA)을 사용하여 여과한 후, 동결 건조하여 최종적으로 평균 37.3%의

회수율인 콜라겐 펩타이드 분말을 얻었다.

아미노산 조성 분석

총아미노산 분석용 시료는 산가수분해법으로 분해하였다. 즉, 단백질 함량으로 30 mg정도의 콜라겐 분말을 cap tube에 취하고 β-mercaptoethanol 0.04%를 함유한 6 N HCl을 단백질량의 1,000배 이상 가하고 질소 가스를 8분간 충전하여 탈기시킨 다음, 110°C sand bath상에서 24시간 가수분해한 후, 농축 건조하여 잔사를 0.2 N sodium citrate buffer (pH 2.2)로써 50 mL로 정용하여, 아미노산 자동분석기(Hitachi model 835, Japan)로 분석하였다. tryptophan은 Hugi와 More(19)의 방법에 의하여 알칼리 가수분해법으로 분해시켜, 550 nm에서 비색 정량하였다.

콜라겐 펩타이드의 분자량 분포 분석

표준시약(polyethylene glycol kit, type PEG-10; Sigma, St. Louis, USA) 및 제조한 콜라겐 펩타이드 시료 0.01 g을 정확히 칭량하여 증류수(D.W.), 아세트니트릴(ACN) 및 트리플루오로초산(TFA)의 혼합 용매(D.W.:ACN:TFA=55:45:0.1, v/v/v)에 용해시켜 실온에서 하룻밤 방치한 후, 0.45 μm membrane filter (Sigma, St. Louis, USA)로 여과한 것을 표준 및 시험용액으로 사용하였다. 표준시약을 HPLC에 주입하여 검량선을 작성한 다음, 검체에 대하여 TSK Gel G2500PW_{XL} column (Φ 7.8×300 mm, TOSOH CO.)을 사용하여 size exclusion chromatography (SEC) 방법에 따라 검체의 분자량 분포를 GPC program Water 510 (Waters Co., Ltd, Boston, Massachusetts, USA)을 이용하여 분석하였다.

실험동물

평균 체중이 60±5 g인 4주령된 Sprague Dawley계 수컷 흰쥐(충북 음성군 DAE HAN BIOLINK Co., LTD)를 구입하여, 5% 옥수수유(신동방(주), pure refined corn salad oil)를 함유하는 기초식으로 9일간 예비사육하여 적응시킨 후 난괴법(Randomized Complete Block Design)에 의해서 6마리씩 3군으로 metabolic cage(JD-C-71, 정도산업, 한국)에 나누어 5주간 실험 사육하였다. 예비사육 및 실험사육 기간 중 물은 자유로이 섭취시켰으며, 사육실의 온도는 20±1°C, 습도는 50±10%로 유지시켰고, 명암은 12시간(07:00~19:00) 주기로 조명하였다.

실험군 및 실험동물의 처리

식이조성 및 실험군은 Table 1과 같다. 대조군(BG군)은 기본식이에 물만 섭취시켰으며, 고지혈증 유발을 위해 돼지 기름 및 cholesterol 7.5 g/kg diet를 함유한 식이를 급여하여 실험사육시킨 실험군에 물 급여군(CW군)과 CCP군은 콜레스테롤 급여군에 콜라겐 펩타이드 10% (100 g/kg diet)를 첨가 조제하였으며, 실험 전 기간 동안 물은 자유로이

섭취시켰다. 실험 사육 5주간의 최종일에는 7시간 단식시킨 후 에테르 마취 하에 심장채혈법으로 채혈하였으며, 혈액은 약 1시간 정도 빙수 중에 방치한 후 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 혈청을 취하여 실험에 사용하였다. 실험 사육 시작과 최종일에 체중을 측정하였으며, 사료 섭취량은 매일 사료 잔량을 측정하여 식이 효율을 산출하였다. 간 및 뇌와 심장, 폐장, 신장, 비장 등은 적출하여 0.9% 생리식염수로 씻은 다음 여과지로 물기를 제거하고 중량을 측정 후 체중에 대한 상대 중량비(%)를 구하여 표시하였다.

Table 1. Experimental groups and compositions of experimental diet

Ingredient	(g/kg diet)		
	Basal diet	Cholesterol diet	Experimental diet
Casein	200	200	200
DL-methionine	3	3	3
Corn starch	150	150	150
Sucrose	500	490	390
Cellulose powder	50	50	50
Mineral mixture ¹⁾	35	35	35
Vitamin mixture ²⁾	10	10	10
Choline bitartrate	2	2	2
Corn oil	50	-	-
Lard	-	50	50
Cholesterol	-	7.5	7.5
Sodium cholate	-	2.5	2.5
Collagen peptide	-	-	100

Group BG: Basal diet+Water (control group). CW: Cholesterol diet+Water, CCP: Cholesterol diet+Fish Scale Collagen Peptide 10%+Water.

¹⁾AIN-76TM mineral mixture contained (in g/kg mixture) calcium phosphate, dibasic, 500.0; sodium chloride, 74.0; potassium citrate, monohydrate, 220.0; potassium sulfate, 52.0; magnesium oxide, 24.0; maganous carbonate, 3.5; ferric citrate, 6.0; zinc carbonate, 1.6; cupric carbonate, 0.3; potassium iodate, 0.01; sodium selenite, 0.01; chromium potassium sulfate, 0.55; sucrose, 118.03.

²⁾AIN-76TM vitamin mixture contained (in g/kg mixture) thiamine Hcl, 0.6; riboflavin, 0.6; pyridoxine Hcl, 0.7; niacin, 3.0; D-calcium pantothenate, 1.6; folic acid, 0.2; biotin, 0.02; vitamin B₁₂, 1.0; vitamin A palmitate, 0.8; vitamin E acetate, 10.0; vitamin D₃, 0.25; menadione sodium bisulfite, 0.15; sucrose, 981.08.

지질성분 및 혈당 정량

혈청 중의 총 콜레스테롤 농도는 총 콜레스테롤 측정용 kit 시약(Cholestezyme -V, Eiken, Tokyo, Japan), HDL-콜레스테롤 농도는 HDL-콜레스테롤 측정용 kit 시약(HDL-C555, Eiken, Tokyo, Japan), 혈청 LDL의 농도는 LDL 측정용 kit 시약(β -lipoprotein C-Test, Wako, Osaka, Japan)으로 측정하였으며, LDL-콜레스테롤 농도는 LDL농도에 0.35를 곱한 값으로 표시하였다. 유리 콜레스테롤 농도는 유리 콜레스테롤 측정용 kit 시약(Free-cholestezyme -V555, Eiken,

Tokyo, Japan)으로 측정하였으며, 콜레스테롤 에스테르 농도는 총 콜레스테롤 농도에서 유리 콜레스테롤 농도를 뺀 평균값으로 표시 하였다. 혈청 중의 중성지질 농도는 중성지질 측정용 kit 시약(Triglyzyme -V, Eiken, Tokyo, Japan)으로 측정하였으며, 인지질 농도는 인지질 측정용 kit 시약(PLzyme, Eiken, Tokyo, Japan)으로 측정하였다. 혈당 농도는 혈당 측정용 kit 시약(GLzyme, Eiken, Tokyo, Japan)으로 측정하였다.

효소활성 측정

혈청 중 alkaline phosphatase (ALP, EC 3.1.3.1) 활성은 혈청 ALP측정용 kit 시약(NEW-K-PHOS, Eiken, Tokyo, Japan)을 사용하여 측정하였으며, 혈청 1 mL당 Unit로 표시 하였다. aminotransferase의 활성은 Reitman과 Frankel의 방법(20)에 준해 조제된 kit 시약(혈청 transaminase 측정시약, Eiken, Tokyo, Japan)을 사용하여 혈청 중 aspartate aminotransferase (AST, EC 2.6.1.1) 및 alanine aminotransferase (ALT, EC 2.6.1.2) 활성을 측정하였으며 단위는 혈청 1 mL당 Unit로 표시 하였다.

통계 처리

분석 결과의 통계 처리는 실험군 당 평균치와 표준편차를 계산하였고 군간의 차이는 One-way analysis of variance (ANOVA, ver. 12.0) 분석 후 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test에 의하여 각 실험군 간의 유의성을 검증 하였다.

결과 및 고찰

콜라겐 펩타이드의 아미노산 조성 및 분자량

송어 비늘을 효소 처리하여 제조한 콜라겐 펩타이드의 아미노산 조성은 Table 2에 나타내었다. 분석 결과, 주요 아미노산은 glycine (23.50 g/100 g), proline (12.00 g/100 g), alanine (10.90 g/100 g), glutamic acid (9.16 g/100 g) 및 arginine (7.61 g/100 g)을 다량 함유하고, 반면에 cystine, cysteine과 같은 함황아미노산이 적으며, 특히 tryptophan이 함유되지 않은 것이 특징이었다.

최근 연구에 의하면, 황다랑어 복부 껍질 gelatin의 주요 아미노산 조성이 glycine (25.48%), proline (13.47%), alanine (11.14%), glutamic acid (11.07%) 등으로 나타났으며(21), 가자미 껍질 젤라틴 가수분해물의 아미노산 조성은 glycine, alanine, proline, hydroxyproline, serine 등 단맛을 내는 아미노산 함량이 전체 아미노산의 57%를 차지하였다는 보고(22)와 유사한 결과를 얻었다.

Table 2. Amino acid compositions of fish scale collagen peptide
(unit: g/100 g)

Amino Acids (A.A.)	Fish Scale Collagen Peptide	
	Composition	% to Total A.A.
Arginine	7.61	8.57
Lysine	3.48	3.92
Histidine	1.09	1.23
Phenylalanine	1.92	2.16
Tyrosine	0.60	0.67
Leucine	2.23	2.51
Isoleucine	1.07	1.20
Methionine	2.07	2.33
Valine	2.22	2.50
Alanine	10.90	12.28
Glycine	23.50	26.47
Proline	12.00	13.52
Glutamic acid	9.16	10.32
Serine	3.07	3.46
Threonine	2.69	3.03
Aspartic acid	5.10	5.74
Tryptophan	ND**	-
Cystine	0.05	0.06
Total A.A. (TAA)	88.76	99.97
EAA*	15.68	
EAA/TAA (%)	17.66	

*Essential amino acids ; valine, leucine, isoleucine, threonine, methionine, lysine, phenylalanine.**Not detected.

식품 원료나 그 기능적 특성을 이용한 기능성 식품 신소재 등으로 활용하기 위하여 어류 비늘에 존재하는 평균 분자량 약 300 kDa의 콜라겐을 열수에 의하여 변성시켜 용출하고, 다시 효소에 의해 가수분해하여 저분자의 펩타이드로 제조시킨, 어류 비늘 콜라겐 펩타이드의 분자량 분포를 측정하기 위하여 분자량 표준품과 시료 용액의 크로마토그램에서 분자량과 용출 시간의 상관관계를 분석한 결과, 분자량 10,000 이상이 0%, 분자량 5,000~10,000까지 0.1%, 분자량 1,000~5,000까지 35.9% 및 분자량 500~1,000까지 55.9% 그리고 분자량 500 이하는 8.1%의 분포로 나타내었으며, 평균 분자량은 989로 나타났다.

대구피를 collagenase로 가수분해시킨 가수분해물의 분자량은 10~20 kDa 범위였고 pronase로 처리한 것은 15 kDa 정도가 주종을 이루었으나, collagenase로 1시간 분해 후 pronase로 다시 3시간 분해시킨 것은 7~10 kDa 범위였으며, 효소에 의한 가수분해로 수산물 가공 부산물이 갖는 유용한 생리적 기능이나 특성을 이용하여 기능성 식품 소재로 활용 가능한 보고도 있다(23). 본 실험에서 alcalase로

60°C에서 48시간 가수분해시킨 승어 비늘 콜라겐 가수분해물의 분자량의 91%가 500~5,000이며, 그 중에서 500~1,000 범위에서는 55.9%로 나타난 것은 저분자량의 펩타이드가 많이 분포한다는 것을 알 수가 있었다.

Table 3. Molecular weight distribution of fish scale collagen peptide treated by enzyme

Range of Molecular Weight (M.W.)	Distribution Ratio (%)
More than 10,000	0
5,000~10,000	0.1
1,000~5,000	35.9
500~1,000	55.9
Less than 500	8.1
Average molecular weight	989

체중 증가량 및 식이효율

기본식이에 물만을 급여한 대조군(BG군), 돼지 기름 및 cholesterol 7.5 g/kg diet를 함유한 식이를 급여하여 고지혈증을 유발시킨 CW군과 고지혈증을 유발하여 콜라겐 펩타이드 10%를 첨가한 CCP군에 있어서 5주간 실험 사육한 흰쥐의 체중 증가량 및 식이 섭취량, 식이 효율은 Table 4와 같다. 체중 증가량은 BG군의 138.5 g에 비하여 고지혈증 유발군인 CW군이 152.1 g으로 높았으며 콜라겐 펩타이드 10%를 첨가한 군(CCP군)이 155.4 g으로 나타났다. CW군 및 CCP군의 체중 증가는 고지혈증 유발과 식이 섭취량에 따른 현상으로 사료되며, 유의적인 변화는 관찰할 수 없었다. 식이 섭취량 및 식이 효율은 BG군에 비해 CW군과 CCP군이 약간 높았으나, 본 실험에서는 세 군간에 유의적인 차이는 보이지 않았다.

Table 4. Body weight gain, food intake and FER of the hyperlipidemic rats

Group*	Body weight gain (g)	Food intake (g)	FER**
BG	138.5±14.2 ^{***}	456.0±16.7 ^a	0.30
CW	152.1±15.4 ^a	464.8±17.2 ^a	0.33
CCP	155.4±13.8 ^a	471.1±18.8 ^a	0.33

*Groups are the same as in Table 1.

**FER : food efficiency ratio.

***Mean±S.D. (n=6). Means in the same column not sharing common superscript letters are significantly different (p<0.05).

장기 조직의 중량

실험사육 5주간의 최종일 7시간 단식시킨 후 측정된 각 장기 및 조직의 중량은 Table 5와 같이, 간장의 중량은 BG군에 비해 콜레스테롤 식이를 급여한 CW군에서 유의하게 높게 나타났으며, CW군에 비하여 콜라겐 펩타이드 급여군인 CCP군은 감소하는 것으로 나타났지만 유의적인 차이는

보이지 않았다. 신장의 중량은 BG군 및 CW군에 비해 CCP 군이 증가되는 것으로 나타났으나, 뇌 및 심장, 폐, 비장의 중량은 콜라겐 펩타이드 급여군(CCP군)과 대조군(BG군) 간에 유의적인 변화는 관찰할 수가 없었다.

한편, 고지혈증 흰쥐에게 게 껍질을 가수분해한 후 저분자 화시킨 키토산 추출물 및 게 껍질 분말 등을 급여하였을 때 각 종 장기 무게의 변화에 식이 섭취량에 따른 체중 증가량의 변화 등 여러 복합 요인이 영향을 미친다고 한다(24,25).

Table 5. Weights of liver, brain, heart, lung, kidney and spleen of the hyperlipidemic rats

Group*	(g/100 g B.W.)					
	Liver	Brain	Heart	Lung	Kidney	Spleen
BG	3.12±0.06 ^{ab}	0.51±0.01 ^a	0.37±0.01 ^a	0.55±0.01 ^b	0.60±0.02 ^a	0.25±0.01 ^a
CW	3.67±0.10 ^b	0.56±0.01 ^b	0.36±0.02 ^a	0.47±0.01 ^a	0.61±0.02 ^a	0.23±0.01 ^a
CCP	3.46±0.12 ^b	0.50±0.01 ^a	0.38±0.01 ^a	0.53±0.03 ^b	0.67±0.01 ^b	0.22±0.01 ^a

*Groups are the same as in Table 1.
^{ab}Mean±S.D. (n=6). Means in the same column not sharing common superscript letters are significantly different (p<0.05).

총 콜레스테롤, HDL-콜레스테롤 농도 및 동맥경화지수

혈청 중의 총 콜레스테롤, HDL-콜레스테롤 농도와 그 비율 및 동맥경화지수는 Table 6과 같다.

혈청 중 총 콜레스테롤 농도는 기본식이만 급여한 BG군의 86.4 mg/dL에 비하여 전 실험군에서 높게 나타났지만, 콜레스테롤로 유발된 고지혈증 실험군(CW군)의 133.8 mg/dL에 비해 콜라겐 펩타이드를 급여한 CCP군이 99.7 mg/dL로 유의적으로 감소하였다. 한편, HDL-콜레스테롤 농도는 CW군(20.4 mg/dL)에 비해 콜라겐 펩타이드를 섭취함으로써 CCP군이 22.5 mg/dL로 증가를 하였다. 총 콜레스테롤에 대한 HDL-콜레스테롤 농도 비는 CW군(15.2%)보다 콜라겐 펩타이드 급여군인 CCP군(22.6%)에서 높은 비율을 나타내었고, 동맥경화지수는 CW군(5.6)에 비해 CCP군(3.4)이 낮게 나타났으나, 대조군인 BG군(2.5)의 수준에는 미치지 못하였다. 고콜레스테롤 식이에 의한 지질대사 장애에 따라 총 콜레스테롤 농도는 증가하고, HDL-콜레스테롤 농도는 저하되는 것으로 알려져 있다(26,27). 어류 잔류물에서 추출한 수용성 콜라겐의 생리활성물질은 기능성 식품 소재이며(28), 대게 껍질에서 분리한 가수분해된 저분자 키토산의 콜레스테롤 농도 저하 효과는 장내에서 내인성 및 외인성 sterol의 흡수를 저해함으로써 일어난다고 한다(29,30). 따라서 본 실험 결과, 고지혈증 흰쥐에 대한 콜라겐 펩타이드의 섭취로 인한 혈청 총 콜레스테롤 농도의 저하, HDL-콜레스테롤 농도의 상승 및 동맥경화지수의 저하 등으로 미루어 보아 혈청 지질 개선에 효과가 있을 것으로 추정된다.

Table 6. Effects of fish scale collagen peptide on concentrations of total cholesterol, HDL-cholesterol and atherosclerotic index in serum of the hyperlipidemic rats

Group*	(mg/dL)			
	Total cholesterol (A)	HDL-cholesterol (B)	(B)/(A) ×100 (%)	A. I.**
BG	84.6±3.2 ^{ab}	23.8±1.2 ^b	28.1	2.5
CW	133.8±4.2 ^c	20.4±0.8 ^a	15.2	5.6
CCP	99.7±2.8 ^b	22.5±1.8 ^{ab}	22.6	3.4

*Groups are the same as in Table 1.
^{ab}Atherosclerotic index; (Total chol. - HDL-chol.)/HDL-chol.
^{ab}Mean±S.D. (n=6).
 Means in the same column not sharing common superscript letters are significantly different (p<0.05).

Low Density Lipoprotein (LDL) 및 LDL-콜레스테롤 농도

혈청 중의 LDL 및 LDL-콜레스테롤 농도는 Table 7에서와 같이, LDL 농도는 콜레스테롤 급여군(CW군)의 233.4 mg/dL 보다 콜라겐 펩타이드 섭취군인 CCP군(207.7 mg/dL)에서 유의적인 감소를 보였으나, BG군의 124.6 mg/dL의 수준에는 미치지 못하였다. LDL-콜레스테롤 농도는 각 군간에 있어서 LDL 농도와 같은 경향을 나타내었다. LDL-콜레스테롤은 콜레스테롤의 주된 운반형으로 동맥벽이나 말초조직에 콜레스테롤을 운반, 축적시킴으로써 동맥경화를 촉진시키는 인자라고 보고된 바 있다(31). 따라서 콜라겐 펩타이드를 급여함으로써 LDL-콜레스테롤 농도를 저하시킨 것으로 미루어 보아, 고지혈증으로 유발될 수 있는 동맥경화 등의 예방 및 개선에 효과가 있을 것으로 사료된다.

Table 7. Effects of fish scale collagen peptide on concentrations of lipid and Blood glucose in serum of the hyperlipidemic rats

	(mg/dL)			
	Group*	BG	CW	CCP
Low density lipoprotein		124.6±8.0 ^{ab}	233.4±5.7 ^c	207.7±4.9 ^b
LDL-cholesterol		43.6±2.8 ^a	81.7±2.0 ^c	72.7±1.7 ^b
Free cholesterol		17.2±1.0 ^a	27.5±1.0 ^c	24.9±1.2 ^b
Cholesteryl ester		67.4±2.2 ^a	106.3±3.2 ^c	74.8±1.6 ^b
Cholesteryl ester ratio (%)**		79.7	79.4	75.0
Triglyceride		75.4±2.2 ^a	117.7±2.1 ^c	89.7±2.7 ^b
Phospholipid		98.9±1.7 ^a	131.1±2.0 ^c	122.0±2.1 ^b
Blood glucose		118.6±5.2 ^a	167.3±3.1 ^c	150.7±3.9 ^b

*Groups are the same as in Table 1.
^{ab}Cholesteryl ester/Total cholesterol × 100.
^{ab}Mean±S.D. (n=6). Means in the same column not sharing common superscript letters are significantly different (p<0.05).

유리 콜레스테롤 및 콜레스테롤 에스테르, 콜레스테롤 에스테르 비

Table 7은 혈청 중의 유리 콜레스테롤, 콜레스테롤 에스테르 및 총 콜레스테롤에 대한 콜레스테롤 에스테르의 비를 나타낸 것으로, 유리 콜레스테롤과 콜레스테롤 에스테르는 고지혈증 실험동물군(CW군)에 비하여 콜라겐 펩타이드 섭취군인 CCP군에서 낮은 경향을 보였고, 콜레스테롤 에스테르 비 또한, 콜라겐 펩타이드 급여군(CCP군)에서 낮은 비율의 범위를 관찰할 수 있었다. 콜레스테롤 에스테르 비는 고지혈증 및 그로 인한 합병증일 때 상승되며, 간 질환의 진단 지표로 사용되기도 한다(32).

중성지질 및 인지질 농도

혈청 중 중성지질과 인지질 농도는 Table 7에서와 같이, 고지혈증 흰쥐 실험군(CW군, CCP군)에 있어서, 대조군인 BG군에 비하여 유의적으로 높게 나타났으나, 실험 군간에 있어서는 고지혈증 유발 실험군인 CW군에 비해 콜라겐 펩타이드 섭취군인 CCP군의 농도가 감소되는 경향을 보였다. 특히, 혈청 중성지질 농도의 감소는 가수분해시켜 저분자화된 콜라겐 펩타이드 섭취로 흰쥐 체내의 lipoprotein lipase에 의한 chylomicron 및 VLDL의 분해에 의한 것으로 추정된다(33).

혈당 농도

콜라겐 펩타이드의 고지혈증 흰쥐에 대한 혈당 농도에 미치는 영향은 Table 7과 같다.

콜레스테롤을 급여한 군들(CW군, CCP군)에서 콜라겐 펩타이드 급여군(CCP군)이 혈당 농도가 감소되는 경향으로 미루어 보아, 콜라겐 펩타이드의 섭취로 인하여 혈당 수준을 저하시킨 것으로 나타났다. 사람에게 있어서 대개 껍질로부터 가수분해시킨 저분자 키토산을 섭취하였을 때 혈당 농도가 유의하게 감소된다는 보고도 있다(34).

Alkaline Phosphatase (ALP)의 활성

혈청 ALP의 활성 변화는 Fig. 1과 같다. 기본식이와 물만을 급여한 대조군인 BG군(18.8 Unit/mL)에 비하여 전 실험군에서 유의성 있게 높게 나타났으나, 콜레스테롤로 유발된 고지혈증 흰쥐 실험군인 CW군(29.4 Unit/mL)에 비해 콜라겐 펩타이드를 섭취시킨 CCP군(25.2 Unit/mL)에서 유의적인 감소를 보였다. 고지혈증과 합병증 및 간 조직이나 담관의 폐쇄 등에 의해서 ALP의 활성이 증가되는 것으로 알려져 있다(32).

Aminotransferase (AST, ALT)의 활성

고지혈증 흰쥐에 대한 콜라겐 펩타이드의 혈청 중 AST 및 ALT 활성은 Fig. 2와 같다. 혈청 AST 활성은 콜레스테롤을 급여한 CW군(81.4 Unit/mL)이 대조군인 BG군(64.5

Unit/mL)에 비하여 유의적으로 높게 나타났으나, 콜라겐 펩타이드 급여(CCP군, 73.1 Unit/mL)로 인하여 감소되는 것으로 나타났다. 혈청 ALT 활성은 BG군(21.4 Unit/mL)에 비해 CW군(29.5 Unit/mL) 및 CCP군(27.8 Unit/mL)에서 증가된 것으로 나타났다. AST 및 ALT 활성은 고지방 식이 등으로 인한 지방간 및 담도폐색, 간 실질세포의 장애로 인하여 증가되는 것으로 알려져 있다(35).

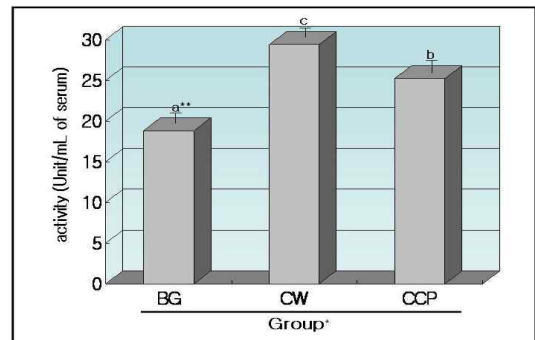


Fig. 1. Effects of fish scale collagen peptide on alkaline phosphatase (ALP, EC 3. 1. 3. 1) activities in serum of the hyperlipidemic rats

*Groups are the same as in Table 1.
**Mean±S.D. (n=6). Means in the same column not sharing common superscript letters are significantly different (p<0.05).

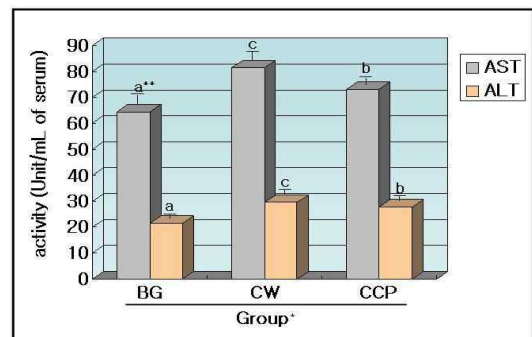


Fig. 2. Effects of fish scale collagen peptide on aspartate and alanine aminotransferase (AST, EC 2. 6. 1. 1 ; ALT, EC 2. 6. 1. 2) activities in serum of the hyperlipidemic rats

*Groups are the same as in Table 1.
**Mean±S.D. (n=6). Means in the same column not sharing common superscript letters are significantly different (p<0.05).

요 약

고지혈증 흰쥐에 있어서, 승어(*Mugil cephalus*) 비늘에서 추출 제조된 저분자 콜라겐 펩타이드 추출물의 급여가 혈청 지질개선 효과 및 지질대사 이상 등에 관여하는 지질성분 및 효소의 활성 변동을 검토하기 위하여 Sprague Dawley계 흰쥐 수컷을 사용하여 본 실험을 행하였다. 기본식이만을 급여한 대조군인 BG군을 비롯한 고지혈증 유발군(CW군), 고지혈증 유발에 콜라겐 펩타이드를 섭취시킨 군(CCP군)

을 5주간 실험사육하였다. 혈청 총 콜레스테롤, 동맥경화지수, LDL-콜레스테롤, 유리 콜레스테롤, 콜레스테롤 에스테르 비, 중성지방 및 인지질 농도 및 혈당 농도 등은 저분자 콜라겐 펩타이드 추출물을 섭취시킨 군(CCP군)에서 농도가 감소되는 것으로 나타났다. 한편, HDL-콜레스테롤 및 총 콜레스테롤에 대한 HDL-콜레스테롤 비 등은 콜라겐 펩타이드 급여(CCP군)에 의해서 증가되는 것으로 나타났다. 혈청 중 alkaline phosphatase (ALP) 및 aminotransferase (AST, ALT)의 활성은 고지혈증을 유도 시킨 후 콜라겐 펩타이드를 급여시킴으로써 감소되는 것으로 나타났다. 이상과 같은 결과들을 미루어 볼 때, 저분자 콜라겐 펩타이드 추출물이 고지혈증 유발 흰쥐의 혈청 지질대사 이상 등에서 오는 고지혈증의 예방 및 개선에 효과가 있을 것으로 추정된다.

참고문헌

- Jerome, S.P., Gabrielle, L. and Raul, F. (1998) Identification of collagen fibrils in scleroderma skin. *J. Invest. Dermatol.*, 90, 48-54
- Cui, X., Bai, J., He, X. and Zhang, Y. (2005) Western blot analysis of type I, III, V, VI collagen after laser epithelial keratomileusis and photorefractive keratectomy in cornea of rabbits. *Yan Ke Xue Bao*, 21, 141-148
- Kwon, M.C., Abdul, Q.S., Kim, H.S., Ahn, J.H., Cho, N.H. and Lee, H.Y. (2008) UV protection and whitening effects of collagen isolated from outer layer of the squid *Todarodes pacificus*. *J. Korean. Fish. Soc.*, 41, 7-12
- Kwon, M.C., Kim, C.H., Kim, H.S., Abdul, Q.S., Hwang, B.Y. and Lee, H.Y. (2007) Antiwrinkle activity of low molecular weight peptides derived from the collagen isolated from *Asterias amurensis*. *Korean. J. Food Sci. Technol.*, 39, 625-629
- Maeda, M., Tani, S., Sano, A. and Fujioka, K. (1999) Microstructure and release characteristics of the minipellet, a collagen-based drug delivery system for controlled release of protein drugs. *J. Control. Release*, 62, 313-324
- Sadowska, M., Kolodziejaska, I. and Niecikowska, C. (2003) Isolation of collagen from the skins of Baltic cod (*Gadus morhua*). *Food Chemistry*, 81, 257-262
- Kimura, S., Omura, Y., Ishida, M. and Shirai, H. (1993) Molecular characterization of fibrillar collagen from the body wall of starfish *Asterias amurensis*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 104, 663-668
- Mizuta, S., Yoshinaka, R., Sato, M. and Sakaguchi, M. (1994) Isolation and partial characterization of two distinct types of collagen in the muscle and skin of the squid *Todarodes pacificus*. *Fish. Sci.*, 60, 467-471
- Nagai, T. and Suzuki, N. (2000) Partial characterization of collagen from purple sea urchin (*Anthocidaris crassispina*) test. *Int. J Food Sci. Technol.*, 35, 497-501
- Mizuta, S., Hwang, J. and Yoshinaka, R. (2002) Molecular species of collagen from wing muscle of skate (*Raja kenojer*). *Food Chem.*, 76, 53-58
- Jeon, Y.J., Kim, Y.T. and Kim, S.K. (1999) Analysis of compositions for effective utilization of fish scales. *Korean J. Life Sci.*, 8, 589-597
- Kim, J.H., Seo, H.Y. and Kim, K.S. (2004) Analysis of radiolytic products of lipid in irradiated dried squids (*Todarodes pacificus*). *J. Food Protect.*, 67, 1731-1735
- Hamada, M. and Mikuni, A. (1988) Chemical composition of sardine scale. *Nippon Suisan Gakk.*, 54, 1987-1993
- Hwang, J.H., Kim, S.J., Kho, K.H., Kim, S.R., Han, K.H., Lee, S.H., Lee, J.H., Rha, S.J., Yoon, H.S., Kim, J.D. and Oh, M.J. (2008) Comparative biochemistry of muscular protein in aquatic animals: Collagen of aquatic animals. *Food Sci. Ind.*, 41, 68-73
- Kim, J.W., Kim, D.K., Park, J.S., Lee, Y.K., Beik, K.Y. and Kim, S.D. (2009) Antioxidant and antimicrobial activities of shark collagens and inhibitory actions on elastase and tyrosinase. *Korean J. Food Preserv.*, 16, 419-426
- Lind, L., Vessby, B. and Sundstrom, J. (2006) The apolipoprotein B/AI ratio and the metabolic syndrome independently predict risk for myocardial infarction in middle-aged men. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 26, 406-410
- Hsu, H.C., Lee, Y.T. and Chen, M.F. (2000) Effect of n-3 fatty acids on the composition and binding properties of lipoproteins in hypertriglyceridemic patients. *Am. J. Clin. Nutr.*, 71, 28-35
- Ogawa, M., Portier, R.J., Moody, M.W., Bell, J., Schexnayder, M.A. and Losso, J.N. (2004) Biochemical properties of bone and scale collagens isolated from the subtropical fish black drum (*Pogonia cromis*) and sheepshead seabream (*Archosargus probatocephalus*). *Food chem.*, 88, 495-501
- Hugli, T.E. and Moore, S. (1972) Determination of the tryptophan content of proteins by ion exchange chromatography of alkaline hydrolysates. *J. Biol. Chem.*, 247, 2828-2832
- Reitman, S. and Frankel, S. (1957) A colorimetric method

- for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. *Am. J. Clin. Pathol.*, 28, 56
21. Yoo, S.J. (2009) Processing optimization and physicochemical properties of gelatin and collagen from yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) abdominal skin. A thesis for the degree of doctor of engineering, Department of food science and technology, Graduate school, Pukyong National University. p.1-87
 22. Kang, T.J. (1992) Enzymatic modification of flounder skin gelatin in a continuous membrane reactor and its utilization. A thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of doctor of engineering, Department of food science and technology, Graduate school, Cheju National University. p.1-111
 23. Kim, S.K., Yang, H.P. and Lee, E.H. (1991) The development of a natural seasoning using the enzymatic hydrolysate of fish skin. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, 6, 327-336
 24. Chung, G.H., Kim, B.S., Hur, J.W. and Chung, S.Y. (1996) Effect of dietary lobster shrimp chitosan on lipid metabolism in diet-induced hyperlipidemic rats. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 25, 384-391
 25. Lee, K.H., Yoon, S.Y. and Kim, H.K. (2000) Effect of crab shell powder on lipid metabolism in diet-induced hyperlipidemic rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 29, 453-459
 26. Kim, K.N., Joo, E.S. Kim, K.I. Kim, S.K. Yang, H.P. and Jeon, Y.J. (2005) Effect of chitosan oligosaccharides on cholesterol level and antioxidant enzyme activities in hypercholesterolemic rat. *J. Korean. Soc. Food Sci. Nutr.*, 34, 36-41
 27. No, H.K., Beik, K.Y. and Kim, S.J. (2002) Effect of chitosan-soybean curd on serum lipid metabolism in rats fed high-fat diet. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 31, 1078-1083
 28. Jung, M.S., Yoon, B.S. and Lim, H.J. (1997) Study on the soluble collagen extraction from the remain after fillet. *Korean Organic Resource Recycling Association, Autumn Special Edition*, p.89-100
 29. Jeon, Y.J. and Kim, S.K. (2001) Effect of antimicrobial activity by chitosan oligosaccharides N-conjugated with asparagine. *J. Microbiol. Biotechnol.*, 11, 281-286
 30. Razdan, A. and Pettersson, D. (1994) Effect of chitosan on nutrient digestibility and plasma lipid concentration in broiler chickens. *Brit. J. Nutr.*, 72, 277-288
 31. Smith, E.B. (1974) The relationship between plasma and tissue lipid in human atherosclerosis. *Adv. Lipid Res.*, 11, 1-7
 32. Kim, K.H. (1980) A translation: The clinical application of the results of the test. *Komoonsa, Seoul, Korea*, p.164-209
 33. Kinnunen, P.K., Virtanen, J.J.A. and Vainio, P. (1983) Lipoprotein lipase and hepatic endothelial lipase. *Atherosclerosis. Rev.*, 11, 65-99
 34. Kim, J.W., Lee, K.J. and Yoon, S.P. (2007) Sexual comparison of decreased postprandial glucose concentration with chitosan-oligosaccharides. *J. Chitin Chitosan*, 12, 222-227
 35. Yi, K.N. and Rhee, C.S. (1996) *Clinical Pathology File. Euihakmunwhasa, Soeul, Korea*, p.101-283

(접수 2009년 7월 30일, 채택 2009년 11월 13일)