

키토산과 세리신 및 콜라겐 추출 혼합물이 당뇨의 혈당 및 지질성분 개선효과

김한수 · 장성호^{1)*} · 윤명주¹⁾ · 최우석 · 강진순²⁾

부산대학교 식품공학과, ¹⁾부산대학교 바이오환경에너지학과, ²⁾한국국제대학교 식품과학부
(2011년 5월 16일 접수; 2011년 6월 2일 수정; 2011년 7월 22일 채택)

Influences of Chitosan, Sericin and Collagen Extract Complexes on the Improvement Actions of Lipid Component in Diabetes

Han-Soo Kim, Seong-Ho Jang^{1)*}, Myung-Joo Yoon¹⁾, Woo-Seok Choi, Jin-Soon Kang²⁾

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

¹⁾Department of Bioenvironmental Energy, Pusan National University, Miryang 627-706, Korea

²⁾School of Food Science, International University of Korea, Gyeongnam 660-759, Korea

(Manuscript received 16 May, 2011; revised 2 June, 2011; accepted 22 July, 2011)

Abstract

This study was conducted to examine the influences of chitosan, sericin and collagen extract complexes (1:1:1, w/w/w, CSC-F-005) in blood glucose and lipid concentrations in the sera of streptozotocin (STZ, 55 mg/kg BW, IP injection)-induced diabetic rats (SD strain) fed on experimental diets for 5 weeks. The concentrations of blood glucose, total cholesterol, HDL-cholesterol, ratio of HDL-cholesterol concentration to total cholesterol, atherosclerotic index, LDL-cholesterol, free cholesterol, cholesteryl ester, triglyceride (TG) and phospholipid (PL) in serum were effective on the metabolic regulation in diabetic rats. The activities of alkaline phosphatase (ALP) and aminotransferase (AST, ALT) in serum were lower in the extract complexes (CSC-F-005) than in the diabetic rats. The results shown above suggested that CSC-F-005 extract complexes supplementation effectively improvement of blood glucose and lipid components in the serum of STZ-induced diabetic rats.

Key Words : Chitosan, Sericin, Collagen, Extract complexes, Diabetes, Blood glucose, Lipid component

1. 서론

당뇨병(Diabetes mellitus)은 인슐린(insulin) 의존형인 제1형 당뇨병과 insulin 비의존형인 제2형 당뇨병으로 분류한다. 제1형은 insulin이 절대적으로 부족

한 상태로 당뇨병성 케톤산증이 발생하여 혼수에 빠지게 되는 질환으로 유전적 요인, 바이러스 감염 및 자가면역기전 등이 상호작용하여 췌장의 β -cell을 파괴하여 insulin 부족에 의하여 발생하는 질환이며, 제2형은 당뇨 질환의 대부분을 차지하며, insulin 생산량은 혈당 수준의 상대적 부족에 의한 질환으로 유전적 감수성, 비만증, 고혈압 등과 밀접한 관계가 있는 것으로 보고되어 있다(Lee, 1999; Diabetes Care, 1997). 당뇨병은 자가면역기전에 의해서 췌장에 있는 Langerhans 섬의 β -cell이 파괴되어 insulin의 생리적

*Corresponding author : Seong-Ho Jang, Department of Bioenvironmental Energy, Pusan National University, Miryang 627-706, Korea
Phone: +82-55-350-5435
E-mail: jangsh@pusan.ac.kr

기능이 충분하지 못할 때 나타나는 증상으로 insulin과 glucagon의 분비 상태가 교란되어 생체 내 대사조절기능의 장애에 의한 만성 대사성 질환이 발생되며 모세혈관 상피세포막이 두꺼워져 이상지질혈증 등 많은 합병증 유발이 문제시 되고 있는 고혈당이 특징인 질환이다(Macrae 등, 1993; Nepom, 1990; Wolff, 1993; Yoon 등, 1987). 이러한 당뇨병의 예방 및 치료 효과의 개선을 위해선 식사요법이 중요하며, 혈중 지질 성분과 혈당농도를 적절한 수준으로 낮추고 적당한 운동과 함께 합병증 등을 치료하는 약물요법을 병행하는 것이 바람직한 것으로 보고되고 있다(American Diabets Association, 1998; Harold와 Holler, 1997).

키토산(chitosan)의 원료가 되는 키틴(chitin)은 N-acetyl-D-glucosamine이 β -1,4 결합한 polysaccharide로 게, 새우 등 갑각류의 외골격과 조류나 균류의 세포벽(cell wall)에 함유되어 있는 천연 고분자물질로 D-glucose가 β -1,4 결합한 cellulose와 유사한 구조를 가지고 있으며, 자연계에 풍부하게 존재하고 있다(Arvanitoyamis 등, 1998; Muzzarelli 등, 1989; Weiner, 1992). 전 세계적으로 chitin의 원료인 갑각류의 폐기물 생산량은 매년 증가되고 있으며(Knorr, 1991), 갑각류의 종류와 계절에 따라 그 성분 조성은 다르게 나타나는 것으로 알려져있다(Kim과 Lee, 1997). Chitin을 탈아세틸화시켜 제조한 고품질의 chitosan은 항산화작용(Kim 등, 2005), 혈당 저하 효과 및 지질농도 감소(Kim 등, 2007; Lee 등, 1998; Lee 등, 2000; No 등, 2002) 등이 있는 것으로 보고되어 있다.

세리신(sericin)은 천연 단백질의 일종으로 누에고치실의 20~30%를 차지하며 고치실 표면에 분포함으로써 외부의 자극으로부터 피브로인(fibroin)을 보호하는 것으로 알려져 있다(Lee 등, 2002). Sericin을 구성하고 있는 주요 아미노산 조성은 serine, aspartic acid가 대부분을 차지하고 있으며, 지질 항산화 및 tyrosinase 활성 저해(Kato 등, 1998; Kawahara 등, 2007), 콜레스테롤의 침착을 억제하고 활성산소의 생성 방지와 산화적 스트레스를 예방하며(Choi 등, 2000), 면역력 증강(Lee 등, 2002), 체지방 감소(Lee 등, 2003; Lee 등, 2003), 항당뇨(Nam과 Oh, 1995;

Yoon 등, 2005) 등 다양한 효능이 있는 것으로 알려져 있다.

콜라겐(collagen)은 인체 단백질 총 중량의 30%를 차지하는 중요한 단백질로 피부, 건(tendon), 뼈 및 치아 유기물질의 대부분을 형성하는데, 특히 뼈와 피부의 진피에 그 함유량이 높으며(Jerome 등, 1998), 생체 재료로서 의약품, 화장품, 식품산업 등에 광범위하게 활용되고 있다(Cui 등, 2005; Kwon 등, 2007; Kwon 등, 2008). 또한 생분해성 및 낮은 항원성 등의 생물학적인 특성 때문에 안전한 생체 적합성을 가진다고 한다(Maeda 등, 1999). 해양 척추동물 및 무척추동물 중 불가사리, 오징어, 해파리, 해산, 홍어 등의 결합조직과 피부에서 추출한 collagen의 연구가 많이 보고되고 있다(Kimura 등, 1993; Mizuta 등, 2002; Mizuta 등, 1994; Nagai와 Suzuki, 2000).

따라서 본 연구는 붉은 대게 껍질을 탈아세틸화시켜 제조된 저분자 키토산 추출물과 누에로부터 효소 처리하여 추출한 세리신 및 수산물 가공 잔사 중에 얻어지는 어류의 비늘을 가수분해시켜 제조된 저분자화 콜라겐 추출물을 같은 비율(%)로 혼합시킨 복합물의 섭취가 streptozotocin으로 유도된 당뇨쥐의 혈당 및 지질 성분에 미치는 영향을 비교한 후, 당뇨병 등 생활습관병 예방과 기능성 신소재 등의 자원으로 활용 방안을 검토할 목적으로 실험을 행하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 실험 재료

경상북도 영덕군에서 붉은 대게(*Chinonecetes japonicus*) 껍질을 수집하여 이물질 제거하고, 수세한 후 40℃에서 12시간 열풍 건조시켜 분쇄한 다음, Muzzarelli의 방법(Muzzarelli, 1977; Muzzarelli 등, 1989)에 준하여 키토산을 조제(Kim과 Yoon, 2008)하여 시료로 사용하였으며, 실험에 사용된 세리신의 추출은 Lee 등의 방법(Lee 등, 2001)을 약간 변경하여 누에로부터 효소 처리하여 추출하였고(Kim 등, 2010), 콜라겐은 부산광역시 자갈치 시장에서 구입한 송어로부터 비늘을 분리한 다음, Ogawa 등의 방법(Ogawa 등, 2004)을 변형하여 제조하였다(Kim 등, 2009). 추출한 각각의 시료를 키토산 : 세리신 : 콜라

젠(33.3% : 33.3% : 33.3%, 1:1:1, w/w/w) 추출 혼합물을 조제하여 “CSC-F-005”라 지칭하였으며, 본 실험에 사용된 각 추출물의 분자량 분포 및 아미노산 조성 등은 저자 등(Kim과 Yoon, 2008; Kim 등, 2010; Kim 등, 2009)이 앞서 보고한 바와 같다.

2.2. 실험 동물의 처리

평균 체중이 60±5 g인 4주령된 Sprague Dawley계 수컷 흰쥐(충북 음성군 DAE HAN BIOLINK Co., LTD, Korea)를 구입하여, 5% 옥수수유(신동방(주), pure refined corn salad oil, Korea)를 함유하는 기초 식이로 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. 사육실의 온도는 20±1 °C, 습도는 50±10%로 유지시켰고, 명암은 12시간(07:00~19:00)주기로 조명하였다. 실험 사육 최종일에는 7시간 절식시킨 후 에테르 마취하에 심장채혈법으로 채혈하였으며, 혈액은 4°C에서 약 1시간 정도 방치한 후 분당 3,000 cycle로 15분간 원심분리하여 혈청을 취해 실험에 사용하였다. 실험 사육 시작과 최종일에 체중을 측정하였으며, 사료 섭취량은 매일 사료 잔량을 측정하여 식이 효율을 산출하였다. 주요 장기 조직의 중량을 측정한 후 체중에 대한 상대 중량비(%)를 구하였다.

2.3. 식이 조성 및 실험군

식이 조성 및 실험군은 Table 1과 같다. 기본 식이를 섭취시킨 대조군(control)인 정상군(normal-nondiabetic), 당뇨 유발 실험 사육 실험군인 질환 모델 대조군(control-diabetic)과 질환 실험군(diabetic-"CSC-F-005")에 추출 혼합물(CSC-F-005) 10% (100 g/kg diet)를 첨가 조제하였다.

2.4. 혈당의 정량

혈당 농도는 혈당 측정용 kit 시약(GLzyme, Eiken, Tokyo, Japan)으로 측정하였다. 즉, 혈청 0.02 mL에 효소 시액 3.0 mL를 가하여 37°C에서 15분간 가온한 후, 500 nm에서 흡광도를 측정하여 정량하였다.

Table 1. Experimental groups and composition of experimental diet

Ingredient	(g/kg diet)	
	Basal diet	Streptozotocin (STZ, IP) ¹⁾
Casein	200	200
DL-methionine	3	3
Corn starch	150	150
Sucrose	500	500
Cellulose powder	50	50
Mineral mixture ²⁾	35	35
Vitamin mixture ³⁾	10	10
Choline bitartrate	2	2
Corn oil	50	50

Group DM1 : Basal diet + Water (control group).
 DM2 : Basal diet+ STZ + Water.
 DM3 : Experimental diet (STZ) + CSC-F-005* 10% + Water.

* Chitosan 33.3% + Sericin 33.3% + Collagen 33.3% (1:1:1, w/w/w).
¹⁾ IP ; intraperitoneal injection (STZ 55mg/kg B.W. ; 0.01 M citrate buffer sol'n (pH 4.6))
²⁾ 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.
³⁾ 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.

2.5. 지질 성분의 측정

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. 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.

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 표시하였다.

2.6. 효소 활성의 측정

혈청 중 alkaline phosphatase (ALP, EC 3.1.3.1) 활성은 혈청 ALP 측정용 kit 시약(NEW-K-PHOS, Eiken, Tokyo, Japan)을 사용하여 측정하였으며, 혈청 1 mL 당 unit로 표시하였다. Aminotransferase의 활성은 Reitman과 Frankel의 방법(Reitman과 Frankel, 1957)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 표시하였다.

2.7. 통계 처리

분석 결과의 통계 처리는 실험군 당 평균치와 표준편차를 계산하였고 군간의 차이는 one-way analysis of variance (ANOVA, ver. 12.0) 분석 후 $\alpha=0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test에 의하여 각 실험군 간의 유의성을 검증하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 체중 증가량 및 식이 효율

기본 식이를 섭취시킨 DM1군(대조군)과 streptozotocin (STZ)을 복강 주사(STZ 55 mg/kg body weight)하여 당뇨를 유도시킨 DM2군, 당뇨를 유도하여 CSC-F-005 추출 혼합물 10%를 첨가한 DM3군에

있어서 5주간 실험 사육한 흰쥐의 체중 증가량 및 식이 섭취량, 식이 효율은 Table 2와 같다. 체중 증가량은 대조군(138.5 g)에 비하여 당뇨 유도군인 DM2군이 117.7 g으로 감소되었으며 CSC-F-005 10%를 첨가한 군(DM3군)이 131.1 g으로 나타났다. DM2군 및 DM3군의 체중 감소는 당뇨 유발과 식이 섭취량에 따른 현상으로 사료되며, CSC-F-005 혼합물을 섭취한 군(DM3군)에서 DM2군 보다 미미한 체중 증가를 나타내었다. 식이 섭취량 및 식이 효율은 대조군에 비하여 DM2군과 DM3군이 약간 낮았으나 세 군 간의 유의적인 변화는 관찰할 수가 없었다. 이는 STZ으로 유도된 당뇨성 흰쥐의 경우 체지방 및 단백을 분해시키는 퇴행성 대사로 인하여 체중과 식이 섭취량은 유의적인 변화는 없었으나 감소된 것으로 추정된다(Daniel 등, 1993; Zachania, 1983).

Table 2. Body weight gain, food intake and FER

Group*	Body weight gain (g)	Food intake (g)	FER**
DM1	138.5±14.2 ^{b***}	456.0±16.7 ^a	0.30
DM2	117.7±13.8 ^a	447.4±17.5 ^a	0.26
DM3	131.1±12.4 ^{ab}	452.4±16.3 ^a	0.29

*See the legend of Table 1.

**FER : food efficiency ratio.

***The data are presented as means±SD of 6 independent rats. Means with different letters are significantly different at $\alpha=0.05$ by Duncan's multiple range test.

3.2. 장기 및 조직의 중량 변동

Table 3은 5주간의 실험 사육 후 측정된 각 장기 및 조직의 중량을 나타낸 것으로, 간장의 중량은 대조군(DM1군)에 비해 STZ를 복강 주사한 DM2군에서 유

Table 3. Weights of liver, brain, heart, lung, kidney and spleen

(g/100 g BW)

Group*	Liver	Brain	Heart	Lung	Kidney	Spleen
DM1	3.12±0.06 ^{b**}	0.51±0.01 ^a	0.37±0.01 ^a	0.55±0.01 ^a	0.60±0.02 ^a	0.25±0.01 ^a
DM2	2.79±0.10 ^a	0.51±0.01 ^a	0.37±0.01 ^a	0.53±0.02 ^a	0.66±0.02 ^b	0.24±0.01 ^a
DM3	3.28±0.13 ^b	0.52±0.03 ^a	0.36±0.03 ^a	0.52±0.01 ^a	0.65±0.02 ^b	0.24±0.02 ^a

*See the legend of Table 1.

**The data are presented as means±SD of 6 independent rats.

Means with different letters are significantly different at $\alpha=0.05$ by Duncan's multiple range test.

의하계($\alpha = 0.05$) 낮게 나타났으나, 기본식이(DM1군)와 CSC-F-005 혼합물을 섭취한 DM3군과는 유의적인 변화를 보이지 않았다. 신장의 중량 변화는 대조군인 DM1군에 비하여 STZ 복강 주사한 DM2군과 DM3군에서 높게 나타났는데 이는 당뇨 유도에 따른 신장 기능의 장애로 추정된다. 한편, 뇌 및 심장, 폐, 비장의 중량 변화는 전 실험군에서 별 다른 차이는 보이지 않은 것으로 본 실험 결과 나타났다.

3.3. 혈당 농도의 변화

CSC-F-005 추출 혼합물의 당뇨성 흰쥐에 대한 혈청 중의 혈당 농도 변화에 미치는 영향은 Table 4에 나타내었다. 기본식이를 섭취시킨 대조군(DM1군)의 경우 혈당량은 118.6 mg/dL이었고, STZ을 복강 주사하여 당뇨를 유도한 흰쥐(DM2군)는 368.4 mg/dL이었다. 한편, STZ에 의하여 당뇨를 유도한 흰쥐에 CSC-F-005 혼합물을 섭취한 결과, 혈당량은 291.8 mg/dL인 변동을 보임으로써 CSC-F-005 혼합물의 섭취는 STZ에 의하여 유도되는 당뇨의 증상을 완화시키는 결과를 얻었다. 따라서 본 실험에 반영된 혈당량 감소는 CSC-F-005의 섭취에 의한 영향으로 생각된다.

Table 4. Effects of CSC-F-005 complexes on concentrations of blood glucose

Group*	Blood glucose (mg/dL)
DM1	118.6±5.2 ^{**}
DM2	368.4±7.4 ^c
DM3	291.8±7.1 ^b

*See the legend of Table 1.

**The data are presented as means±SD of 6 independent rats. Means with different letters are significantly different at $\alpha=0.05$ by Duncan's multiple range test.

3.4. 콜레스테롤 농도의 변화

당뇨성 흰쥐의 혈청 중 총 콜레스테롤 농도는 Table 5에서와 같이, 대조군인 DM1군의 84.6 mg/dL에 비하여 여타 실험군에서 높게 나타났지만, STZ을 복강 주사한 당뇨성 흰쥐 실험군(DM2군)의 109.2 mg/dL에 비해 CSC-F-005 추출 혼합물을 섭취한 DM3군이 91.2 mg/dL로 총 콜레스테롤 농도가 유의적으로 감소되었다. 한편, HDL-콜레스테롤 농도 변화는 DM2군의 21.9 mg/dL에 비해 CSC-F-005 혼합물을 섭취함으로써 DM3군이 22.5 mg/dL로 증가되었으나 유의적인 차이는 없었다. 그러나 총 콜레스테롤에 대한 HDL-콜레스테롤 농도 비는 DM2군(20.0%)보다 CSC-F-

Table 5. Effects of CSC-F-005 complexes on lipid concentrations in serum

(mg/dL)

Lipid component	DM1*	DM2	DM3
Total cholesterol (A)	84.6±3.2 ^{*****}	109.2±3.3 ^c	91.2±3.1 ^b
HDL-cholesterol (B)	23.8±1.2 ^a	21.9±0.9 ^a	22.5±1.2 ^a
(B)/(A)×100 (%)	28.1	20.0	24.7
AI**	2.5	4.0	3.1
LDL-cholesterol	43.6±2.8 ^a	65.5±1.9 ^c	51.8±1.7 ^b
Low density lipoprotein	124.6±8.0 ^a	187.1±5.4 ^c	148.0±4.9 ^b
Free cholesterol	17.2±1.0 ^a	22.3±1.3 ^b	21.4±1.1 ^b
Cholesteryl ester	67.4±2.2 ^a	86.9±2.0 ^b	68.8±2.0 ^a
Cholesteryl ester ratio (%)***	79.7	79.6	76.3
Triglyceride	75.4±2.2 ^a	101.4±3.9 ^c	82.2±2.7 ^b
Phospholipid	98.9±1.7 ^a	117.7±2.5 ^c	106.3±1.7 ^b

*See the legend of Table 1.

**Atherosclerotic index; (Total chol. - HDL-chole.) / HDL-chole.

***Cholesteryl ester / Total cholesterol × 100.

****The data are presented as means±SD of 6 independent rats.

Means with different letters are significantly different at $\alpha=0.05$ by Duncan's multiple range test.

005 혼합물 섭취군인 DM3군(24.7%)에서 높은 비율을 보였고, 동맥경화지수는 DM2군(4.0)에 비해 DM3군(3.1)이 낮게 나타났지만 대조군의 2.5 수준에는 미치지 못하였다. 당뇨병 환자는 지질대사 장애에 의하여 총 콜레스테롤 농도는 증가하고, HDL-콜레스테롤 농도는 저하되며(Goldberg, 1981; Reaben, 1987), 당뇨병 환자에 있어서 당노가 진행될수록 혈중 VLDL (very low density lipoprotein) 제거율이 감소되어 혈액 중의 지질 성분이 증가되는 것으로 알려져 있다 (Baron 등, 1984; Tol, 1977).

혈청 중의 LDL 및 LDL-콜레스테롤 농도는 Table 5에서와 같이, LDL 농도는 STZ 투여군인 DM2군의 187.1 mg/dL 보다 CSC-F-005 추출물 섭취군인 DM3군(148.0 mg/dL)에서 유의적인 변화를 보였으나, 대조군의 수준에는 미치지 못하였다. LDL-콜레스테롤 농도는 각 군간에 LDL 농도와 같은 변화를 보였다. 혈청 중의 유리 콜레스테롤, 콜레스테롤 에스테르 및 총 콜레스테롤에 대한 콜레스테롤 에스테르의 비는 Table 5와 같다. 유리 콜레스테롤과 콜레스테롤 에스테르는 당뇨 유도군인 DM2군에 비해 CSC-F-005 급여군인 DM3군에서 저하되는 것으로 나타났고, 콜레스테롤 에스테르 비 또한, CSC-F-005 섭취군(DM3군)에서 낮은 비율의 변화를 보였다. 본 실험 결과, 당뇨병 환자에 대한 CSC-F-005 혼합물의 섭취는 혈청 지질 농도의 개선에 영향을 주는 것으로 관찰되었다. STZ로 유도된 당뇨병 환자의 혈청 중 중성지질과 인지질 농도는 당뇨병 환자 실험군(DM2군, DM3군)에 있어서, 대조군에 비해 월등히 높게 나타났으나, 실험군 간에 있어서는 당뇨 유도 실험군인 DM2군에 비하여 CSC-F-005 섭취군인 DM3군의 농도가 감소되는 것으로 나타났다.

3.5. Alkaline phosphatase (ALP)의 활성 변동

CSC-F-005 추출 혼합물의 섭취가 당뇨 유발 환자의 혈청 ALP 활성 변동에 미치는 영향은 Table 6에 나타내었다. 대조군인 DM1군의 18.8 Unit/mL에 비해 여타 실험군에서 높게 나타났으나, 당뇨병 환자 실험군인 DM2군(24.2 Unit/mL)에 비해서 CSC-F-005를 급여시킨 DM3군(21.4 Unit/mL)이 유의적인 감소 효과를 보였다.

Table 6. Effects of CSC-F-005 complexes on alkaline phosphatase (ALP, EC 3. 1. 3. 1) activities

Group *	Alkaline phosphatase	
	Activity (Unit/mL of serum)	
DM1	18.8±0.9 ^{a**}	
DM2	24.2±1.1 ^c	
DM3	21.4±1.2 ^b	

*See the legend of Table 1.

**The data are presented as means±SD of 6 independent rats. Means with different letters are significantly different at $\alpha=0.05$ by Duncan's multiple range test.

3.6. Aminotransferase(AST, ALT)의 활성 변동

실험 사육 5주간의 CSC-F-005 추출 혼합물이 STZ 복강 주사에 의한 혈청 중 AST 및 ALT 활성 변동에 미치는 영향을 검토한 결과는 Table 7과 같다. 혈청 중의 AST 활성은 STZ을 투여한 DM2군(74.8 Unit/mL)이 대조군의 64.5 Unit/mL에 비하여 유의적으로 높게 나타났으나, CSC-F-005 섭취로 인하여 67.9 Unit/mL로 유의적인 감소의 차이를 보였다. 한편, ALT 활성은 대조군(21.4 Unit/mL)에 비해 DM2군(25.5 Unit/mL)과 DM3군(22.2 Unit/mL)에서 증가된 것으로 나타났으나, CSC-F-005 급여로 효소 활성이 감소되는 경향을 확인할 수가 있었다.

Table 7. Effects of CSC-F-005 complexes on aspartate and alanine aminotransferase(AST, EC 2. 6. 1. 1 ; ALT, EC 2. 6. 1. 2) activities

Group *	Activity (Unit/mL of serum)	
	AST	ALT
DM1	64.5±1.9 ^{a**}	21.4±0.9 ^a
DM2	74.8±2.1 ^c	25.5±1.1 ^b
DM3	67.9±1.1 ^b	22.2±0.8 ^a

*See the legend of Table 1.

**The data are presented as means±SD of 6 independent rats. Means with different letters are significantly different at $\alpha=0.05$ by Duncan's multiple range test.

4. 결론

해양생물 환경자원 등 비가식부의 유용한 활용을 목적으로 본 연구에서는 붉은 대게 껍질을 탈아세틸

화시켜 제조된 저분자 키토산과 누에를 효소 처리하여 얻은 세리신 및 어류 비늘을 가수분해시켜 추출된 가용성 콜라겐을 같은 비율(1:1:1, w/w/w)로 혼합시킨 복합물(CSC-F-005)을 섭취함으로써, 혈당과 지질 성분 및 효소 활성 등 생체 내 당질 및 지질대사 이상 및 개선 효과를 검토하기 위하여 본 실험을 실시하였다. Sprague Dawley계 숫 흰쥐에 streptozotocin (STZ 55 mg/kg BW, IP injection)으로 유도된 당뇨병 실험 동물에게 CSC-F-005 추출 혼합물 10%를 각각 급여하여 5주간 실험 사육한 결과, 혈당 농도는 CSC-F-005 추출 혼합물을 섭취함으로써 유의적인 저하 효과를 보였다. 혈청 총콜레스테롤 농도, HDL-콜레스테롤 농도 및 총 콜레스테롤에 대한 HDL-콜레스테롤 농도 비, 동맥경화지수, LDL-콜레스테롤, 유리 콜레스테롤, 콜레스테롤 에스테르, 중성지방, 인지질 농도 등 지질성분에서 농도 개선 효과를 보인 것으로 나타났다. 또한, 혈청 중의 alkaline phosphatase 및 aspartate aminotransferase (AST, ALT)등 효소 활성 변동은 CSC-F-005 혼합물을 섭취함으로써 저하되는 것으로 나타났다. 따라서 본 실험 결과, CSC-F-005 추출 혼합물이 STZ으로 유도된 당뇨쥐의 혈당 조절 및 지질 농도 개선에 효과가 있는 것으로 사료되며, 대사 장애 등에서 오는 당뇨병 질환의 개선에 도움이 있을 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

American Diabets Association, 1998, Nutrition recommendations and principles for people with diabetes mellitus (position statement), *Diabets Care*, 21(suppl.1), s32-s35.

Arvanitoyamis, I. S., Nakayama, A., Aiba, S., 1998, Chitosan and gelatin based edible films : State diagrams, mechanical and permeation properties, *Carbohydr. Polymer*, 37, 371-382.

Baron, H. E., Levy, Y., Oschry, Z. E., Scafrir, E., 1984, Removal effect of very low density lipoproteins from diabetic rats, *Biochem. Biophys. Acta.*, 793, 115-118.

Choi, J. H., Kim, D. I., Park, S. H., Kim, J. M., Lee, J. S., Lee, K. G., Yeo, J. H., Lee, Y. W., 2000, Effects of silk fibroin on oxidative stress and membrane

fluidity in brain of SD rats, *Korean J. Life Science*, 10, 511-518.

Cui, X., Bai, J., He, X., 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.

Daniel, D. G., Saari, C., Don, W. S., Judith, M. O., 1993, Diabetes increase excretion of urinary malonaldehyde conjugates in rats, *Lipids*, 28, 663-666.

Goldberg, R. R., 1981, Lipid disorders in diabetes, *Diabetes Care*, 4, 561-572.

Harold, J., Holler, R. D., 1997, Diabetes medical nutrition therapy, A professional guide to management and nutrition education resources, *J. Am. Diet. Assoc.*, 97, 99-113.

Jerome, S. P., Gabrielle, L., Raul, F., 1998, Identification of collagen fibrils in scleroderma skin, *J. Invest. Dermatol.*, 90, 48-54.

Kato, N., Sato, S., Yamanaka, A., Yamada, H., Fuwa, N., Nomura, M., 1998, Silk protein, sericin, inhibits lipid peroxidation and tyrosinase activity, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 62, 145-147.

Kawahara, Y., Yamamoto, T., Furukawa, K., Washika, S., Kamei, K., Minami, H., Nishiuchi, S., 2007, Sericin hydrolyzate obtained by hydrothermal treatment and its antioxidant activity, *SENI GAKKAISHI*, 63, 44-46.

Kim, H. S., Yoon, H. D., 2008, Effects of the chitosan oligosaccharide in take on the improvement of serum lipid level in hypercholesterolemic rats, *Life Sci.*, 18, 1686-1692.

Kim, H. S., Seong, J. H., Lee, Y. G., Yoon, H. D., Kang, J. S., Xie, C. L., Shin, J. M., 2010, Influences of silkworm sericin on the improvement actions of lipid metabolism in dyslipidemic rats, *J. Life Sci.*, 20, 1525-1531.

Kim, H. S., Seong, J. H., Lee, Y. G., Xie, C. L., Choi, W. S., Kim, S. H., Yoon, H. D., 2009, Effect of low molecular weight collagen peptide extractisolated from scales of the flathead mullet (*Mugil cephalus*) on lipid metabolism in hyperlipidemic rats, *Korean J. Food Preserv.*, 16, 938-945.

Kim, J. W., Lee, K. J., Yoon, S. P., 2007, Sexual

- comparison of decreased postprandial glucose concentration with chitosan-oligosaccharides, *J. Chitin Chitosan*, 12, 222-227.
- Kim, K. N., Joo, E. S., Kim, K. I., Kim, S. K., Yang, H. P., Jeon, Y. J., 2005, Effect of chitosan oligosaccharides on cholesterol level and antioxidant enzyme activities in hypercholesterolemic rat, *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.*, 34, 36-41.
- Kim, S. K., Lee, E. H., 1997, Biocompatibility and medical applications of chitin and chitosan, *J. Chitin Chitosan*, 2, 39-74.
- Kimura, S., Omura, Y., Ishida, M., Shirai, H., 1993, Molecular characterization of fibrillar collagen from the body wall of starfish *Asterias amurensis*, *Comp. Biochem. Physiol.*, 104, 663-668.
- Knorr, D., 1991, Recovery and utilization of chitin and chitosan in food processing waste management, *Food Technol.*, 45, 114-119.
- Kwon, M. C., Kim, C. H., Kim, H. S., Abdul, Q. S., Hwang, B. Y., Lee, H. Y., 2007, Antiwrinkle activity of low molecular weight peptides derived from the collagen isolated from *Asterias amurensis*, *Kor. J. Food Sci. Technol.*, 39, 625-629.
- Kwon, M. C., Abdul, Q. S., Kim, H. S., Ahn, J. H., Cho, N. H., Lee, H. Y., 2008, UV protection and whitening effects of collagen isolated from outer layer of the squid *Todarodes pacificus*, *J. Kor. Fish. Soc.*, 41, 7-12.
- Lee, J. M., Cho, W. K., Park, H. J., 1998, Effects of chitosan treated with enzymatic method on glucose and lipid metabolism in rats, *J. Korean Nutr. Soc.*, 31, 1112-1120.
- Lee, K. G., Kweon, H. Y., Lee, Y. W., Yeo, J. H., Woo, S. O., Cho, C. S., Kim, K. H., 2002, Characteristics of silk sericin powder prepared by mechanical treatment, *Korean J. Seric. Sci.*, 44, 82-86.
- Lee, K. G., Yeo, J. H., Lee, Y. M., Kweon, H. Y., Kim, J. H., 2001, Bioactive and skin-compatible properties of silk sericin, *Korean J. Seric. Sci.*, 43, 109-115.
- Lee, K. H., Yoon, S. Y., 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.
- Lee, M. S., Kim, D. M., Cho, B. N., Koo, S. J., Jew, S. S., Jin, D. K., Lee, S. H., 2003, Study on consequent body fat and serum lipid metabolism after cocoon hydrolysate, green tea leaves and dietary fiber supplementation, *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.*, 46, 123-129.
- Lee, S. H., Cho, B. N., Hyun, C. K., Jew, S. S., 2002, Physiological, functional characteristics of silk peptide : Antioxidant effect and immune function, *Food Science & Industry*, 35, 57-62.
- Lee, S. H., Cho, B. N., Hong, I. J., Lee, M. S., Jew, S. S., Kim, D. M., Jin, D. K., Rho, S. N., 2003, Effects of green tea, cocoon hydrolysates and capsulated components mixture on body fat and serum lipid composition in college women in terms of supplemented periods, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 32, 715-722.
- Lee, T. H., 1999, Diagnosis and classification of diabetes mellitus, *Food Industry and Nutrition*, 4, 61-65.
- Macrae, R., Robinson, R. K., Sadler, M. J., 1993, *Encyclopedia of food science, food technology and nutrition*, Vol. II, Academic Press, NewYork, 1329.
- Maeda, M., Tani, S., Sano, A., Fujioka, K., 1999, Microstructure and release characteristics of the minipellet, a collagen-based drug delivery system for controlled release of protein drugs, *J. Controlled. Rel.*, 62, 313-324.
- Mizuta, S., Hwang, J., Yoshinaka, R., 2002, Molecular species of collagen from wing muscle of skate (*Raja kenoi*), *Food Chemistry*, 76, 53-58.
- Mizuta, S., Yoshinaka, R., Sato, M., Sakaguchi, M., 1994, Isolation and partial characterization of two distinct types of collagen in the muscle and skin of the squid *Todarodes pacificus*, *Fisheries Science*, 60, 467-471.
- Muzzarelli, R. A. A., 1977, *Chitin*, Pergamon Press Ltd, Oxford, 89.
- Muzzarelli, R. A. A., Weeks, M., Filippini, O., 1989, Removal of trace metal ions from industrial waters, nuclear effluents and drinking water, with the aid of cross-linked N-carboxymethyl chitosan, *Carbohydr. Polymer*, 11, 293-306.
- Nagai, T., Suzuki, N., 2000, Partial characterization of collagen from purple sea urchin (*Anthocidaris*

- crassispina) test, *Int. J of Food Sci. and Technol.*, 35, 497-501.
- Nam, J. K., Oh, Y. S., 1995, A study of pharmacological effect of silk fibroin RDA, *Kor. J. Agric. Sci.*, 37, 145-157.
- Nepom, G. T., 1990, A unified hypothesis for the complex genetics of HLA association, *Diabetes*, 39, 1153.
- No, H. K., Beik, K. Y., 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.
- Ogawa, M., Portier, R. J., Moody, M. W., Bell, J., Schexnayder, M. A., 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 chemistry*, 88, 495-501.
- Reaben, K. M., 1987, Abnormal lipoprotein metabolism in noninsulin -dependent Diabetes mellitus, *Am. J. Med.*, 83, 31 -40.
- Reitman, S., Frankel, S., 1957, A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase, *Am. J. Clin. Pathol.*, 28, 56.
- The expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus, 1997, Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus, *Diabetes Care*, 20(suppl. 7), 1183-1197.
- Tol, A. V., 1977, Hypertriglyceride in the diabetic rat effective removal of serum very low density lipoproteins, *Atherosclerosis*, 26, 117 -128.
- Weiner, M. L., 1992, An overview of the regulation status and of the safety of chitin and chitosan as food and pharmaceutical ingredients, In *advances in chitin and chitosan*, Elsevier Applied Science, London and New York, 670-672.
- Wolff, S. P., 1993, Diabetes mellitus and free radicals, free radicals, transition metals and complications, *Br. Med. Bull.*, 49, 642-652.
- Yoon, J. W., Kim, C. J., Park, C. Y., McArthur, R. G., 1987, Effect of environmental factors on development of insulin-dependent diabetes mellitus, *Clin. Invest. Med.*, 10, 459.
- Yoon, J. W., Rhee, S. K., Lee, K. B., 2005, Effects of silkworm extract powder on plasma lipids and glucose in rats, *Korean J. Food & Nutr.*, 18, 140-145.
- Zachania, M., 1983, Effect of brown rice and soybean dietary fiber on the control of glucose and lipid metabolism in diabetic rats, *Am. J. Clin. Nutr.*, 38, 388-393.