

날치 난소막 추출물의 물리화학적 특성

장부식 · 이미진 · 정노희[†]

씨엔에이바이오테크(주), 충북대학교 공업화학과의
(2014년 7월 14일 접수; 2014년 9월 19일 수정; 2014년 9월 25일 채택)

Physicochemical Characteristics of Extract from Flying Fish Roe Shell

Boo-Sik Jang · Mi-Jin Lee · Noh-Hee Jeong[†]

CNA Biotech., Co., Ltd.

[†]*Dept. Industrial Eng. Chem., Chungbuk Univ. Cheongju 361-763 Korea*
(Received July 14, 2014; Revised September 19, 2014; Accepted September 25, 2014)

요약 : 본 연구는 날치 난소막에서 추출한 날치 난소막 추출물(Flying fish Roe Shell Extract, 이하 FRSE라 명함)의 물리화학적 특성을 조사하기 위하여 수행되었다. 해양성 원료인 날치 난소막에서 FRSE를 제조하여 물리화학적 특성을 분석하였다. 영양성분 조성을 분석한 결과 FRSE는 81.00%의 단백질과 9.12%의 회분, 그리고 4.48%의 수분으로 구성되어있는 것으로 나타났다. 아미노산 조성분석 결과 FRSE는 콜라겐 펩타이드의 특징인 OH-proline과 glycine이 검출되었으며, 포도당과 지방 대사에 관여하는 glutamic acid 와 aspartic acid 함량이 높게 검출되었다. 또한 열량분석 결과에서는 100g의 FRSE가 347 kcal의 열량을 지니고 있는 것으로 나타났다. FRSE의 분자량 분석 결과에서는 약 1,300 Da정도의 평균분자량 분포를 나타낸다는 것을 알 수 있었다.

Abstract : In this study were performed to investigate the physicochemical properties of flying fish roe shell extract(FRSE) extracted from flying fish roe shell. FRSE was prepared using marine flying fish roe shell, and then analyzed it's physicochemical properties. The result showed that the nutritional composition of FRSE consisted of 81.00% protein, 9.12% ash and 4.48% moisture. There were OH-proline and glycine known as characteristics of collagen peptide in the amino acid analysis of FRSE, and there were large amount of glutamic acid and aspartic acid involved in the metabolism of glucose and fat. The calories of FRSE was 347 kcal/100g and molecular weight appeared less than 1,300 Da molecular weight distribution.

Keywords : Collagen, Collagen Peptide, Placenta, Amino Acid, Molecular weight

[†]Corresponding author
(E-mail: nhjeong@cbnu.ac.kr)

1. 서론

태반은 태아의 성장에 필요한 다양한 영양분과 호르몬을 공급하기 위한 기관으로 풍부한 생리활성물질의 복합체로 알려져 있다. 이런 태반은 고대로부터 인도에서 상처 치료 혹은 외과수술 후 조직 복구를 위한 목적으로 사용되었고 동양의 의학교서인 중국의 약학서 본초강목과 조선시대의 동의보감에 자하거(紫河車)라는 이름으로 기술되어 정신안정작용, 간질, 건망증 및 기관지염이나 허약 체질에 효과가 있는 약제로 사용된 기록이 있다[1].

1959년 일본에서는 태반 추출물이 “라이넥”이라는 이름의 주사제로 상품화되어 간경화 치료목적의 주사제로 일본후생노동성의 인가를 받아 발매가 시작되었다. 한국에서는 2003년부터 일본의 인태반 추출물주사제를 수입하여 현재 간기능 개선 및 갱년기 증상 개선제로 허가가 되어 있고, 일부 업체에서 돈태반을 원료로 하여 태반 추출물을 생산하고 있다. 또한 피부미백 효과에 대한 연구와 항노화제로서 연구와 더불어 다양한 생리활성 중 염증 조절 즉 면역 활성화에 대한 연구 등이 보고되고 있다[2-6]. 이러한 다양한 기능으로 태반 추출물 또는 가수분해물의 요구가 증가되고 있지만, 현재 원료로 사용되고 있는 인태반이나 돈태반, 양태반 등은 분리수거 과정이나 농장 내 수직감염에 의한 다양한 종류의 병원성 미생물로부터 안전하게 처리되지 못하는 실정으로 소비자에게 불안의 요소를 내포하고 있다. 병원성 미생물로부터의 위협에서 벗어난 어류의 난소막에서 포유동물의 태반을 대체할 수 있는 마린 프라센타의 개발에 대한 필요성이 급격히 부각되고 있다. 또한 날치알 채취 후 부산물로 얻게 되는 날치 난소막의 부가가치를 창출하여 다방면으로 활용할 수 있는 생산기술을 확보하고 제품을 생산하여 수입증대 효과를 보고자 한다.

따라서 본 연구에서는 해양성 원료인 날치 난소막에서 날치 난소막 추출물(Flying fish roe shell extract, 이하 FRSE라 명함)을 제조하여 기능성 소재로서의 응용성을 검토하고자 현재 기능성 원료로 상용화되어 쓰이고 있는 연어 난소막으로부터 추출한 연어 난소막 추출물(Salmon roe shell extract, 이하 SRSE라 명함)과 비교분석하기 위하여 동일한 농도 조건으로 점도, 비중, pH, 영양성분, 에너지, 구성 아미노산, 분자량 분포 등의 물리화학적 성질을 분석함으로써 그 특

성을 비교 검토하고자 하였다.

2. 실험

2.1. 재료

본 연구에 시료로 사용된 날치 난소막은 인도네시아산으로 씨엔에이바이오텍(주)에서 2013년 11월에 구입한 후 물로 세척하여 분쇄한 뒤 실험에 사용하였고, 단백질 가수분해용 효소는 분석용 시약으로 알카라제(Subtilisin EC3.4.21.62 from *Bacillus licheniformis*, 2.4 AU/mg)와 뉴트라제(EC 3.4.24.28. from *Bacillus amyloliquefaciens*, 0.8 AU/mg)는 덴마크 Novozyme사의 제품을 사용하였다.

대조군으로 사용된 연어 난소막 추출물은 Nippon Barrier Free Co., Ltd의 연어 난소막에서 추출한 연어 난소막 추출물을 사용하였다.

2.2. 날치 난소막 추출물의 제조

날치 난소막 추출물의 제조는 Jang의 방법[7]을 참고 하여 원재료인 날치 난소막을 세척하여 분쇄한 후 5 wt% NaOH 수용액을 이용하여 1 : 4 의 비율로 침지시키고, 원재료인 날치 난소막 대비 0.06 wt%의 알카라제를 첨가하여 진동 온도기에서 50~55 °C, 200 rpm의 조건으로 30분간 교반하면서 1차 가수분해 시키고, 원료대비 0.06 wt%의 뉴트라제를 첨가하여 2차 가수분해 시켰다. 효소를 이용한 가수분해를 마친 시료는 200 mesh 체를 사용하여 추출액과 잔여물을 분리하는 1차 여과를 진행하였다. 다음 1차 여과된 여액을 기공의 크기가 10 μm인 먼 여과기를 사용해 2차 감압 여과함으로써 불순물을 제거한 후 여액을 85 °C에서 30분 동안 가열하여 남아 있는 효소를 불활성화시켜 날치 난소막 추출물을 제조하였다. 제조된 날치 난소막 추출물의 추출액에 액량의 중량대비 0.5 wt%의 활성탄을 첨가하여 진탕항온기에서 50°C, 200 rpm의 조건으로 30분 동안 교반하면서 탈색과 탈취를 시켰다. 활성탄 처리로 1차 정제된 날치 난소막 추출물의 추출액을 이온교환 수지를 이용하여 추출액에 포함되어 있는 유리아미노산 및 Na⁺, H⁺, Cl⁻, OH⁻ 등의 염을 제거하는 2차 정제과정으로 탈이온 처리를 하였다. 탈이온 처리된 날치 난소막 추출물의 추출액을 기공 1 μm의 멤브레인필터를 사용해 감압 여과함으로써, 난용성 불순물을

제거하여 순수한 날치 난소막 추출물을 정제한 후 분무건조기를 이용하여 180~200 °C의 온도조건에서 시간당 100~150 ℓ의 수분을 건조시켜 분말화하여 얻어진 날치 난소막 추출물 분말을 본 실험의 재료로 사용하였으며 제조공정은 Fig. 1에 나타내었다.

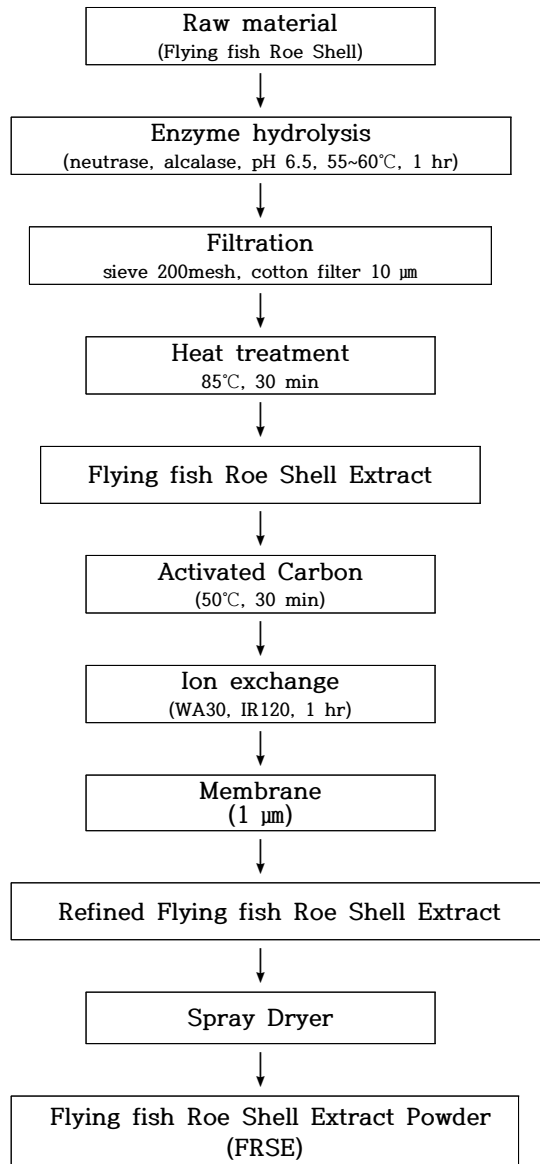


Fig. 1. Production process of Flying fish Roe Shell Extract from Flying fish Roe Shell.

2.3. 분석

2.3.1. 일반물성 분석

Fig. 1의 제조공정에 의하여 얻은 날치 난소막 추출물에 대한 색상, 맛, 냄새 등의 관능검사를 실시하고, pH, 비중, 중금속, 점도 등의 일반 물성은 식품공전의 일반시험법에[8] 준하여 실험하였다.

2.3.2. 영양성분 및 열량측정

날치 난소막 추출물의 조단백, 조지방, 탄수화물 등의 영양성분 분석은 식품공전의 시험법에 준하여 조단백 분석은 세미마이크로킬달법으로, 조지방 함량은 에테르 추출법으로 그리고 탄수화물 분석은 벨트란법으로 분석하였다[9]. 날치 난소막 추출물에 대한 열량 분석은 에크워트 계수를 사용하여 계산하였으며, 영양성분 분석에 의해 산출된 각 영양성분의 함량에 의하여 연어 난소막 추출물의 조단백질, 조지방 및 탄수화물의 함량에 2.44, 8.37 및 3.57의 각각의 에너지 환산계수를 곱하여 각 영양성분 함량에 따른 날치 난소막 추출물의 에너지를 산출하였다.

2.3.3. 구성아미노산 조성 및 분자량 측정

날치 난소막 추출물의 아미노산 조성 분석은 phenyl isothiocyanate(이하 PITC라 명함)법을 참고로 자동아미노산 분석기(Waters Pico Tag HPLC system, Milford, MA, USA)에 의해 Waters 510 HPLC을 이용해서 행하였고, 추출 및 전 처리 방법은 시료 중 1000 μl를 취하여 PICO-tag 방법에 의해서 수화 및 PITC labeling을 한 시료 400 μl 중에서 20 μl를 HPLC에 loading 하여 크로마토그램을 얻어 이를 표준 검량선으로 하여 성분을 확인하였다[10]. 분석 조건은 Table 1과 같다.

Table 1. Operating Condition for Amino Acid Analysis

Items	Conditions
Model	Waters 510 HPLC pump, H ₂ O Waters Gradient Controller Waters 717 Automatic sampler
Column	Waters Pico-tag column(3.9×300 mm, 4 μm)
Detector	Waters 996 photodiode array detector(PDA), 254 nm
Data analysis	millenium 32 chromatography manager
Reaction amount	100 μl or mg
Injection volume	50 ml
PITC-labeling volume	400 ml
Injection amount	12.5 ml or mg

Table 2. General Properties for FRSE and SRSE

Properties	Materials	FRSE	SRSE
Appearance		Powder of dark brown color	Powder of dark brown color
Oder		Characteristics(mild fishy odor)	Characteristics(mild fishy odor)
pH		6.0	6.2
Specific gravity		1.0	1.0
Heavy metals		0.85 ppm	0.98 ppm
Viscosity		6 pa.s	6 pa.s
Average Molecular weight		1,300 Da	1,500 Da

3. 결과 및 고찰

3.1. 날치 난소막 추출물의 제조

날치 난소막 추출물을 추출하기 위한 제조방법은 Jang의 제조방법[6]을 참고하였고, 확립된 최적가수분해 조건에 의하여 0.06 wt%의 알카라제를 이용한 1차 가수분해 와 0.06 wt%의 뉴트라제를 이용한 2차 가수분해를 통하여 날치 난소막 추출물을 추출하였고, 각 단계의 여과 공정을 거쳐 순수한 날치 난소막 추출물을 정제하였으며, 분무건조기를 이용하여 건조된 날치 난소막 대비하여 수율 11.5 wt%의 날치 난소막 추출분말을 제조하였다.

3.2. 날치 난소막 추출물의 물리화학적 특성

3.2.1. 물리적 특성

날치 난소막 추출물의 물리적 특성은 Table 2에 나타난 바와 같이 갈색의 분말로서 원재료 특유의 독특한 냄새가 약간 있었고, 날치 난소막 추출물과 연어 난소막 추출물의 pH는 각각 6.0, 6.2의 약산성으로 나타났다. 날치 난소막 추출물의 비중 및 점도는 전반적으로 연어 난소막 추출물과 비슷한 물성을 나타내었지만 중금속 함량에 있어서는 연어 난소막 추출물에서 조금 높은 수치를 보였는데 이것은 연어가 자란 지역의 수질에 의한 영향으로 사료된다.

3.2.2. 영양성분 및 에너지

날치 난소막 추출물의 탄수화물, 조단백, 조지방, 회분 및 수분 등의 영양성분과 에너지의 측정 결과는 Table 3와 같다. 날치 난소막 추출물의 영양성분 조성 중 날치 난소막 추출물의 단백질 함량은 81.00%로 연어 난소막 추출물의 92.20% 보다는 낮은 수치를 보였지만, 탄수화물이 5.09%가 존재함으로써 뮤코다당체와 히아루론산 등을 포함하고 있는 것으로 추측된다.

에너지에 있어서는 날치 난소막 추출물은 347 kcal로서 연어 난소막 추출물의 369 kcal와 비교 시 낮은 에너지를 나타낸 결과로 미루어 볼 때 건강기능 식품이나 일반 식품에 적용 시 연어 난소막 추출물 보다는 날치 난소막 추출물이 저 에너지원으로서의 가치가 있을 것으로 사료된다.

3.2.3. 구성 아미노산 및 분자량

HPLC의 UV 검출기를 이용한 PITC법에 의하여 날치 난소막 추출물과 연어 난소막 추출물에 대한 아미노산 조성을 분석한 결과는 Table 4와 같다. 동물성 콜라겐 펩타이드의 특징인 히드록시 프롤린 함량과 글리신 함량에 있어서 날치 난소막 추출물은 0.09 wt%, 7.51 wt%로 연어 난소막 추출물의 2.90 wt%, 11.0 wt% 보다 낮은 함량을 나타냈지만, 콜라겐 생합성시 이용되는 히드록시 프롤린, 프롤린 함량과 글리신 함량의 비율이 1:1로서 섭취 시 인체 내에서 콜라겐 생합성에 도움을 줄 수 있을 것으로 기대된다. 아울러 아미노산 분자 측정에 수산기를 가지고 있어 수분 보유력을 나타내는 능력으로 피부의 보습 역할을 함으로써 피부의 탄력과 관계되는 피부 조직의 수복작용의 역할을 하는 세린의 함량이 6.32 wt%로 연어 난소막 추출물의 5.00 wt% 보다 높게 나타남으로써 보습효과를 위한 화장품 소재로서의 기능을 갖추고 있는 것으로 나타났다[11]. 또한 날치 난소막 추출물과 연어 난소막 추출물

은 포도당과 지방대사에 관여하는 글루탐산이 각각 13.11 wt%, 12.00 wt%로 비교적 높아 뇌 속의 유해물질을 해독하는 동시에 뇌에 영양공급원이 될 수 있음을 시사하고 있다[12]. 아울러 ACE 저해활성을 가지는 펩타이드의 아미노산을 분석한 결과 프롤린, 티로신, 알라닌, 로이신이 주요 구성 아미노산이라고 보고한[13] 바와 같이 연어 난소막 추출물과 콜라겐 펩타이드에서 프롤린, 티로신, 알라닌, 로이신을 다량 함유하고 있는 것으로 보아 날치 난소막 추출물과 연어 난소막 추출물 모두 ACE 저해활성을 가질 것으로 생각되어 진다. 또한 필수아미노산을 모두 함유하므로 섭취 시 인체 내에서 단백질 합성이 용이할 것으로 사료된다.

MALDI-TOP 질량분석기에 의한 날치 난소막 추출물과 연어 난소막 추출물의 분자량 측정 결과를 Fig. 2와 Fig. 3에 나타내었다. 날치 난소막 추출물의 분자량 분포는 708~1,628 Da의 범위에서 비교적 낮은 분자량 분포를 보이고 있는 것으로 나타났으며, 연어 난소막 추출물의 분자량 분포는 852~2,021 Da의 범위에 분포하여 날치 난소막 추출물의 분자량 분포보다 높은 분자량과 넓은 분포 범위를 지니고 있는 것으로 나타났다. 일반적으로 피부에 흡수 가능한 분자량을 2,000 Da으로 보고되었다[14, 15]. 따라서 날치 난소막 추출물과 연어 난소막 추출물 모두 거의 대부분이 피부로 흡수되어 피부에 보습 효과가 매우 클 것으로 기대되며, 날치 난소막 추출물이 기능성 소재로 이용되고 있는 연어 난소막 추출물의 대체 소재로서의 가치가 있을 것으로 사료된다.

Table 3. Composition of Nutrition Ingredient and Calorie for FRSE and SRSE

Materials	Ingredient	Protein (wt%)	Carbohydrate (wt%)	Fat (wt%)	Ash (wt%)	Moisture (wt%)	Calorie (kcal)
FRSE		81.00	5.09	0.31	9.12	4.48	347
SRSE		92.20	-	-	3.70	4.10	369

Table 4. Amino Acid Compositions of FRSE and SRSE

Amino acid	Materials	FRSE(mg/100g)	SRSE(mg/100g)
Glutamic acid		13.11	12.00
Aspartic acid		5.14	8.50
Alanine		4.41	6.70
Glycine		7.51	11.00
Lysine		3.06	6.10
Proline		7.32	5.80
Valine		6.52	4.10
Leucine		4.26	5.80
Serine		6.32	5.00
Threonine		3.04	4.00
Tryptophan		0.04	0.41
Phenylalanine		2.59	2.60
OH-proline		0.09	2.90
Arginine		2.50	6.80
Histidine		1.68	1.70
Methionine		0.75	2.60
Cystine		0.1	0.58
Tyrosine		4.25	2.00

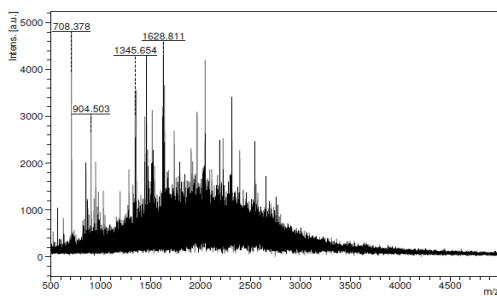


Fig. 2. Distribution of molecular weight on extract from Flying Fish Roe Shell.

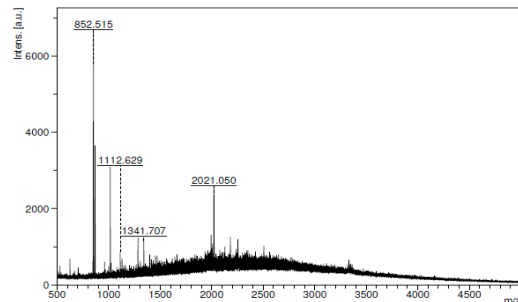


Fig. 3. Distribution of molecular weight on extract from Salmon Roe Shell.

4. 결론

본 연구에서는 날치 난소막으로부터 날치 난소막 추출물을 제조하여 물리화학적 성질을 비교 분석한 결과 날치 난소막 추출물의 단백질 함량

은 81.00%로 연어 난소막 추출물의 92.20% 보다는 낮은 수치를 보였지만, 탄수화물이 5.09%가 존재함으로써 뮤코다당체와 히아루론산 등을 포함하고 있는 것으로 추측되며, 날치 난소막 추출물은 347 kcal로서 연어 난소막 추출물의 369

kcal보다 낮은 에너지원으로서의 가치를 나타냈다. 또한 날치 난소막 추출물은 연어 난소막 추출물보다 낮은 저분자량의 분포를 나타냈다. 이러한 결과를 토대로 날치 난소막 추출물은 현재 시판중인 연어 난소막 추출물과 비교시 물리화학적 특성이 유사하고 낮은 에너지원으로서의 활용이 가능하며 낮은 분자량을 지니고 있어 피부에서의 흡수가 용이하므로 피부에 보습 효과도 우수하여 주름개선에도 큰 영향을 줄 것으로 기대되며 기능성 소재로서의 활용도 가능한 것으로 사료된다.

References

1. R. Garg, F. Zahar, J.A. Chandra, P. Vatsal, *J. Indian Med. Assoc.*, **106(7)**, 463 (2008).
2. H. Itho, *J. Frangrance*, **6**, 67 (1990).
3. P. Pal, S. Mallick, S.K. Mandal, M. Das, A.K. Dutta, P.K. Datta, R. Bera, R. Bhadra, *Int. J. Dermatol.*, **41(11)**, 760 (2002).
4. T.K. Sur, T.K. Biswas, L. Ali, B. Mukherjee, *Acta Pharmacol Sin.*, **24(2)**, 187 (2003).
5. Khemka, Aditya, Chakrabartri, Nilay, Chitale, Uttarwar, Amit, *Am. J. Surg.*, **15(2)**, 14 (2008).
6. J.W. Kim, T.J. Min, *J. of the Korean Chemical Society* **29(3)**, 295 (1985).
7. B.S. Jang, M.J. Lee, N.H. Jeong, *J. of the Korean Oil Chemists' Soc.*, **30(3)**, 560 (2013).
8. KFIA Korea Food Additives Code, 1345 (2009).
9. KFIA, Korea Food Code, 585 (2003).
10. KHSA, Health Functional Food Code, 302 (2009).
11. J. Serup, A. Winther, C.W. Blichmann, *Acta Derm Venereol*, **69**, 457 (1989).
12. S.H. Jang, A. Jang, K.J. Kim, Y.H. Cheon, *J. Anim. Sci. & Technol.* **45(2)**, 319 (2003).
13. K.Y. Shin, C.W. Park, C.H. Lee, *Korean J. Dermatol*, **38**, 183 (2000).
14. J.I. Shin, C.W. Ahn, H.S. Nam, H.J. Lee, and T.H. Moon, *Kor. J. Food Sci. Technol.*, **27**, 230 (1995).
15. S.C. Ahn, B.Y. Kim, W.K. Oh, M.S. Lee, E.Y. Bae, D.W. Kang, and J.S. Ahn, *Kor. J. Pharmacogn.*, **33**, 144 (2002).