3 어종 어피 콜라겐의 성분 조성

손선아 · 신은성 · 박유민 · 마아영 · 양혜린 · 김신혜 · 신태선

전남대학교 식품영양학전공

Composition of Collagen Extracted from the Skin of Three Different Varieties of Fish

Seon-Ah Son, Eun Seong Shin, Yoo Min Park, Ayeong Ma, Hyelin Yang, ShinHye Kim, and Tai-Sun Shin

Division of Food and Nutrition Chonnam National University

ABSTRACT Many studies have been conducted on the methods of collagen extraction from fish skin. However, the specific composition of the collagen has not been reported so far. This study aimed to identify components other than amino acids in collagen. Collagen was extracted from the skin of tilapia (*Oreochroma niloticus*), flounder (*Paralichthys olivaceus*), and red sea bream (*Pagrus major*) using a commonly used acid extraction method. Thereafter, the component composition of collagen was confirmed. The yield of collagen was 1.11% from tilapia, 1.79% from red sea bream, and 2.06% from flounder. The protein content of all three samples, tilapia (85.39%), red sea bream (87.48%), and flounder (92.06%) collagen was over 85%. Analysis of the amino acid composition revealed that, glycine accounted for the highest proportion in all the samples of fish skin and collagen. The imino acid content was highest in the tilapia skin (151.1 residues) and collagen (210.7 residues). The triglyceride content in the of collagen was less than 0.7% in tilapia (0.37%), sea bream (0.61%), and flounder (0.31%). The major fatty acids in collagen were palmitic acid, stearic acid, and nervonic acid. Calcium in the fish skin accounted for the highest proportion of the mineral composition at 23.96~466.84 mg/100 g, and the collagen contained a large amount of sodium 189.28~1,433.52 mg/100 g. The collagen contained galactose, glucose, and mannose, and the galactose and glucose levels were three times higher than those of fish skin. Our study confirmed that the collagen extracted from fish skin contained lipids and minerals even though it was purified.

Key words: tilapia, flounder, red sea bream, fish skin, collagen

서 론

콜라겐은 신체의 다양한 결합조직의 세포외 성분에서 가장 풍부한 구조단백질이다(Jafari 등, 2020; Muller, 2003; Shoulders와 Raines, 2009). 주로 식품, 생체재료 및 제약 분야에 사용되며(Kan 등, 2017), 일차적인 생의학적인 응용은 특히 약물 및 유전자 운반체, 조직공학, 흡수성 봉합사, 골형성 및 뼈 충전 재료, 지혈제, 치료 효소의 고정화 및 화상, 상처 커버 드레싱과 같은 생체재료에 있다(Jafari 등, 2020; Silver, 2009; Sahiner 등, 2014; Dong과 Lv, 2016; Xu 등, 2014; Wang 등, 2019; Agren, 2016). 현재까지 생분해

성 고분자는 일부 의료 응용 분야에서 사용할 수 있지만 높은 비용 및 낮은 성능으로 인해 사용이 제한적이다. 콜라겐의 경우 주로 소나 돼지 등의 육상동물로부터 유래된 피부 및 뼈 등으로부터 얻어지고 있으나, 광우병(bovine spongiform encephalopathy), 전염성 해면상 뇌병증(transmissible spongiform encephalopathy) 및 구제역(foot-and-mouth disease)과 같은 안전성 문제로 인하여 육상동물 유래 콜라겐의 사용을 기피하고 있는 추세이다(Zhang 등, 2007). 이러한 안전성 문제로 인해 생체적합성 소재로서 이용에 문제점이 대두되고 있어, 안전한 해양 수산 생물 자원에 관한 관심이 높아지고 있다. 육상생물과 비교하여 수인성

Received 8 December 2021; Revised 15 December 2021; Accepted 23 December 2021

Corresponding author: Tai-Sun Shin, Division of Food and Nutrition, Chonnam National University, 77, Yongbong-ro, Buk-gu, Gwangju 61186, Korea, E-mail: shints@jnu.ac.kr

Author information: Seon-Ah Son (Researcher), Eun Seong Shin (Graduate student), Yoo Min Park (Graduate student), Ayeong Ma (Graduate student), Hyelin Yang (Graduate student), ShinHye Kim (Student), Tai-Sun Shin (Professor)

© 2022 The Korean Society of Food Science and Nutrition.

This is Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

감염 등에 대한 안전성과 높은 생체적합성(bio compatibility)을 가지고 있는 수산생물들은 최근 의공학 소재로써 많은 관심을 받고 있다(Oh와 Jung, 2015). 또한, 낮은 항원성(lowantigenicity), 세포부착능력(cell-binding properties) 및 높은 생분해성 등의 특징들을 가지고 있어 생체재료로 널리 이용되고 있다(Jeong 등, 2007; Murphy 등, 2010). 조직재생과 관련하여 해파리(jellyfish) 유래 콜라겐에 대한 연구가 활발하며, 해양 유래 콜라겐에 관한 연구도 점차 증가하고 있는 추세이다(Oh와 Jung, 2015). 최근에는 어피에서 추출한 저분자 단위 콜라겐을 이용한 다양한 화장품 및 식품 콜라겐 제품에 응용되고 있다(Gauza-Włodarczyk 등, 2017). 콜라겐의 수율과 기능성이 높은 어종이 모니터링되고 있으며(Tonndorf 등, 2020), 최근 고순도 및 고분자의 콜라겐을 정제하는 데 중점 둔 연구가 있다. 가장 널리 이용되는 콜라겐 추출법에는 산 추출법과 효소 처리법이 있으며, 균질화(Tan과 Chang, 2018), 한외여과(Chen 등, 2016), 초음파처리(Ali 등, 2018)와 같은 콜라겐 추출 방법으로 콜라겐의 정제 순도를 높이려는 연구가 진행되고 있다. 그러나 원료인 어피에 대한 조성 성분은 잘 연구되어 있지만, 그 어피로 추출된 콜라겐에 대한 성분 분석은 단백질 함량과 아미노산 조성에 국한되어 있고(Ahn 등, 2021; Yang과 Hong, 2012; Song 등, 2021; Truong 등, 2021), 콜라겐이 함유하는 성분에 대한 기초자료는 거의 없는 실정이다. 따라서 본 연구에서는 콜라겐의 변성을 최소화하는 산 추출법을 이용하여(Benjakul 등, 2012) 국내에서 소비되는 열대 양식 어류인 틸라피아(*Oreochroma niloticus*), 양식산 넙치(*Paralichthys olivaceus*), 자연산 참돔(*Pagrus major*) 어피에서 콜라겐을 추출하고, 어피와 콜라겐이 함유하는 단백질 및 아미노산 외에 중성지방 함량과 지방산 조성, 무기질, 구성당을 분석하여 정제된 콜라겐이 함유하는 성분 조성을 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에서 사용한 재료는 경상남도 도천 양어장의 양식산 틸라피아(*Tilapia*, *Oreochroma niloticus*), 제주도 청룡수산의 양식산 넙치(*Flounder*, *Paralichthys olivaceus*), 전라남도 남해수산에서 채취한 자연산 참돔(*Pagrus major*) 어피를 구매하여 지느러미, 비늘, 잔육 등을 제거하고 세척, 절단 후 밀봉 포장하여 심온냉동고(-85°C)에 저장하여 실험에 사용하였다.

원료 전처리

동결된 어피는 동결건조 후 세절(2×2 mm)하여 사용하였다. 전처리의 모든 과정은 4°C 저온실에서 진행하였으며 전처리하기 위해 세절된 틸라피아, 참돔, 넙치의 어피는 물로 씻어 이물질을 제거하였다. 전처리는 0.1 N NaOH를 24시

간 처리하여 비 콜라겐성 단백질을 제거하고 10% butanol을 48시간 처리하여 탈지하였다(Fig. 1).

콜라겐의 추출

어피로부터 콜라겐의 추출은 Benjakul 등(2012)의 방법을 일부 수정하여 산 추출법으로 수행하였다(Fig. 1). 0.5 M acetic acid를 사용하여 콜라겐을 추출하였으며, 콜라겐 용액이 0.05 M tris-HCl과 2.6 M NaCl의 최종 농도가 되도록 조정하여 콜라겐을 침전시켜 crude 콜라겐을 제조하였다. 이 콜라겐을 0.5 M acetic acid에 용해시켜 한외여과막(10,000 MWCO; Amicon, Millipore Co., Burlington, MA, USA)을 이용하여 48시간 동안 0.5 M acetic acid로 세척 후 농축하였다. 농축된 콜라겐 용액을 동결건조하여 콜라겐을 제조하여 분석하였다.

일반성분 분석

일반성분 분석은 AOAC법(2005)에 준하여 행하였다. 원재료는 동결건조한 시료를 세절하여 사용하였으며, 수분은 각 시료를 일정하게 취하여 상압가열건조법으로, 조회분은 직접 회화법, 조지방은 Soxhlet법, 조단백질은 micro-Kjeldahl법으로 측정하였다. 탄수화물은 100%에서 수분, 회분, 조지방, 조단백질의 비율을 뺀 값으로 하였다.

전기영동

콜라겐의 단백질 분자량 분포는 sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis(SDS-PAGE)에 의해 측정하였다. 분석용 시료는 5 mg 콜라겐에 0.5 M 아세트산을 첨가하여 녹였다. 콜라겐 용액을 3:1(v/v) 비율로 완충액과 혼합한 후 10% Mini-PROTEAN® TGX™ Precast gel(Bio-Rad Lab., Inc., Irvine, CA, USA)에 이렇게 제조된 20 µL 시료를 주입하고 Mini-PROTEAN® Tetra cell(Bio-Rad Lab., Inc.)에 장착하였다. 일정한 전류(10 mA per gel)를 흘려 전기영동을 실시하였다. 단백질의 분자량 분포는 Precision Plus Protein™ 표준(10-250 K, Bio-Rad Lab., Inc.)을 사용하여 확인하였다.

아미노산 조성

아미노산 분석은 시료 0.1 g을 테플론-실리콘 라이닝 된 스크류 캡의 유리 시험관에 약 6 N HCl을 가하여 질소가스 치환 후 110°C로 24시간 동안 가열하여 가수분해하였다. 전량을 50 mL 용량 플라스크에 넣은 후 증류수로 정용하여 0.45 µm PTFE syringe filter로 여과한 것을 분석용 시료로 사용하였다. Shimadzu 아미노산 자동분석기(Shimadzu Co., Ltd., Kyoto, Japan)를 사용하여 형광 검출기를 이용하는 o-phthalaldehyde(OPA)법으로 측정하였다. Column은 유리아미노산 분석용 Shim-pack AMINO-Li(6.0×100 mm), buffer flow rate는 0.6 mL/min, OPA reagent flow rate는 0.3 mL로 설정하여 분석하였으며, 형광검출기의 excitation

Fig. 1. Chart for the preparation of acid soluble collagen (ASC). All procedures are performed at 4°C. (A) Preparation of raw materials, (B) Extraction, (C) Precipitation, (D) Recovery (Benjakul et al., 2012).

파장은 350 nm와 emission 파장은 450 nm를 사용하였다. 분석 결과는 1,000 아미노산 잔기당 각 아미노산의 잔기로 표기하였다.

지방산 조성 및 중성지질

Fatty acid methyl ester(FAME)는 Griffiths 등(2010)의 수정된 방법에 따라 제조되었다. 즉, 각 시료를 테플론-실리콘 라이닝 된 스크류 캡이 있는 유리 시험관에 약 0.1 g을 넣고 0.2 mg C17 내부표준물질을 함유하는 500 μ L toluene에 용해한 후 100 μ L의 2,2-dimethoxypropane (water scavenger)과 0.5 N sodium methoxide 1 mL를 넣고 혼합하여 80°C waterbath에서 20분 동안 교반하였다. 5분 동안 실온에서 냉각시키고 1 mL BF₃ methanol을 첨가하여 80°C waterbath에서 20분 동안 교반한 후 실온에서 냉각하고 400 μ L hexane과 400 μ L 포화식염수를 첨가하여 3,000 rpm에서 5분 동안 원심분리하였다. 상부 hexane-toluene 층 2 mL를 vial로 옮겨 GC 분석용 시료로 사용하였다. FAME의 정량분석은 GC(Shimadzu GC-2010, Shimadzu Co.)를 사용했으며 FID 검출기 온도는 280°C로 설정하였다. Column 온도는 160°C에서 5분간 머문 후 220°C까지 1°C/min 온도를 상승시킨 후 40분간 머물렀다. Injector 온도는 250°C, split ratio는 1:50, carrier gas는 N₂(35 mL/min)를 사용하였다. GC 내부 표준물질(C17)을 포함하

는 FAME 추출물(1 μ L)을 SP-2560 capillary column (100.0 m length×0.25 mm I.D., 0.20 μ m thickness; Supelco Inc., Bellefonte, PA, USA)에 자동시료주입장치 (Shimadzu AOC-20i)를 이용하여 주입하였다. FAME 표준 물질(37 mix FAME, Sigma-Adrich)을 이용하여 검량선을 작성하고 시료의 지방산을 정량하였다. 지방산의 중성지질로 환산은 AOCS Official Method Ce 1h-05(American Oil Chemists' Society, Champaign, IL, USA)를 참고하여 환산하였다.

구성당 분석

시료 100 mg을 15 mL 시험관에 넣고 여기에 2 M HCl을 5.0 mL 가한 후 혼합하였다. 시험관 내부의 공기를 질소(N₂) gas로 치환하고 마개를 하여 100°C로 가온된 가열 블록에서 5시간 가열하여 가수분해하였다(Shin 등, 2011). 가수분해된 시료를 냉각하고 2 N NaOH를 5.0 mL 가하여 시료를 중화한 후 6,000 rpm(650×g)으로 30분간 원심분리하고, 상등액 3 mL를 취하여 0.45 μ m membrane filter로 여과하고 구성당의 분석 시료로 사용하였다. 콜라겐의 구성당 분석은 Shimadzu 환원당 자동 분석기를 이용하여 분석하였다. 환원당 분석기의 구성은 Shimadzu LC-20AD pump, CTO-20AC oven, Sil-20AC auto-sampler, RF-10Axl fluorescence detector, CBR-6A chemical reaction box,

CBM-20A system controller, LC Workstation software (Shimadzu Co.)를 이용하였다. 환원당 분리는 ion exchange Shim-pack ISA-07(4.0×250 mm, Shimadzu Co.) 분석 column과 Shim-pack ISA guard column(4.0×50.0 mm, Shimadzu Co.)을 사용하였다. 이동상은 A용액으로 potassium borate(pH 8)와 B용액으로 potassium borate(pH 9)를 사용하였는데, B용매를 0분에서 0%로 시작하여 50분에 100%로 증가시키고 15분간 100%로 유지한 후 65분부터 90분까지 0%로 감소시켰다. 총 90분의 분석 시간으로 하였다. 이동상 유속은 0.6 mL/min, 반응시약 유속은 0.5 mL/min으로 설정하였고, 시료는 10 µL를 주입하였다. Post-column 방법을 이용하여 환원당을 유도체화한 후 형광 검출기(Ex=320, Em=430)를 사용하여 분석하였다. 반응시약으로 1% arginine과 3% boric acid를 함유하는 용액을 사용하였고, CBR-6A chemical reaction box를 이용하여 150°C로 반응시켜 유도체화하였다(Shin 등, 2011). 환원당 표준물질을 탈 이온화 증류수에 용해시켜 0.1~20 µg/mL 범위의 표준용액을 조제하여 HPLC 분석을 시행하고, peak area로부터 검량선을 작성하여 구성당을 정량하였다.

미네랄 조성

원소분석은 Ca, K, Mg, Na, Cu, Fe, Mn, Ni, Zn을 분석하였다. 시료 약 0.5 g 시료를 microwave teflon 용기에 넣고 65% 질산 7 mL와 과산화수소 2 mL를 가한 후 microwave (MARSX-Press, CEM Corporation, Matthews, NC, USA)를 이용하여 30분 동안 분해하였다. 분해액은 1% 질산 용액을 이용하여 적절하게 표준액의 농도 범위로 희석하고 ICP-MS(Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrophotometry; NexION 300 ICP-MS, PerkinElmer, Inc., Waltham, MA, USA)로 미네랄을 분석하였다.

통계처리

본 연구의 통계적 분석은 IBM SPSS Statistic(Version 26.0, IBM Corporation, Armonk, NY, USA)과 Excel (2016, Microsoft, Seattle, WA, USA)을 이용하여 수행하였다. 각 시료에 대한 유의성 검정은 독립표본 t-test와 Duncan test를 이용하였다. $P < 0.05$ 수준에서 유의성을 검증하였으며 데이터는 평균±표준편차로 표기하였다.

결과 및 고찰

어피의 일반성분 조성

지느러미, 비늘 및 잔육 등을 제거한 후 동결건조한 어피의 수율은 틸라피아 26.07%, 참돔 24.58%, 넙치 21.14%로 나타났다. 세 어종 어피의 일반성분 분석 결과는 Table 1과 같다. 수분과 회분은 넙치가 75.69%와 0.27%로 틸라피아(72.53%, 0.17%)와 참돔(73.26%, 0.19%)보다 많았다($P < 0.05$). 조단백질 함량은 틸라피아(22.78%)와 넙치(21.99%)가 유사하였으며 참돔은 17.82%로 가장 낮았다. 지방은 참돔이 7.71%를 함유하여 틸라피아(2.41%)와 넙치(0.80%)보다 많은 함량을 보였다. 참돔의 지방 함량은 보고된 다른 어피의 지방 함량보다 높은 것으로 나타났다. 어피에 조지방을 많이 함유하는 것으로 알려진 농어(Muyonga 등, 2004)는 약 6.8% 지방을 함유하며, 낮은 지방 함량을 보이는 어피는 상어(Kittiphattanabawon 등, 2010)가 약 0.19%로 알려져 있다. 앞선 연구의 어피에 대한 일반성분 조성을 보면 어피의 습식 중량으로 수분함량은 60~75%, 단백질은 14~25%, 지방은 0.19~15%, 회분은 0.1~12% 정도로 같은 어종이라도 어류의 수확 시기, 서식지, 생육온도, 연령 등에 따라 다르게 나타난다(Benjukul 등, 2012; Li 등, 2018). 성체 농어 어피의 지질(6.8%)과 회분(6.0%) 함량은 어린 농어(5.0%와 3.7%)보다 높은 함량을 나타냈으나 단백질은 유사하다고 하였다(Muyaonga 등, 2004). 본 연구의 양식산 틸라피아는 자연산 틸라피아의 단백질 함량(21.89%), 지방(2.27%)과 유사하였으나 회분 함량(11.70%)과는 많은 차이를 보였다(Li 등, 2018). 어피의 조성 성분은 콜라겐의 추출에 있어 다양한 영향을 미친다. 장어의 콜라겐 추출에 있어 어피 표면에 함유된 미네랄 성분을 제거하면 어피 조직을 느슨하게 하여 콜라겐 추출이 쉽다고 하였으며(Veeruraj 등, 2015), 지방을 많이 함유하는 어피는 콜라겐 추출 후 침전과정에서 에멀전 형성으로 추출 수율을 낮추기 때문에 탈지하여 지방 함량을 낮추어야 한다(Hashim 등, 2015). 본 연구에서 중성지질 함량은 지방산을 정량하고 중성지질로 전환하여 계산하였다. 참돔은 조지질 함량 7.71% 중 중성지질이 3.93%로 나타나 중성지질 이외에 카로티노이드 색소, 지용성 비타민 등 다른 비극성 성분이 틸라피아나 넙치 어피와 비교해 많이 함유하는 것으로 사료된다.

Table 1. The proximate composition of fish skin¹⁾

Fish skin	Wet weight basis (g/100 g)				
	Moisture	Protein ²⁾	Lipid (triglyceride)	Ash	Carbohydrate
Tilapia	72.53±2.12 ^b	22.78±0.43 ^a	2.41±0.13 ^b (2.05±0.04)	0.17±0.03 ^b	2.12±0.57 ^a
Red sea bream	73.26±1.11 ^b	17.82±2.06 ^b	7.71±0.64 ^a (3.93±0.05)	0.19±0.04 ^b	1.02±1.61 ^a
Flounder	75.69±1.01 ^a	21.99±0.50 ^a	0.80±0.19 ^c (0.77±0.03)	0.27±0.04 ^a	1.25±1.18 ^a

¹⁾ Means in the same column for each species followed by different letters are significantly different according to Duncan's test ($P \leq 0.05$); mean±standard error (SE).

²⁾ The conversion factor of 5.09 (tilapia), 5.07 (red sea bream), 5.05 (flounder) was used for calculation of the protein content.

Table 2. The proximate composition of collagens¹⁾

Fish skin	Wet weight basis (g/100 g)				
	Moisture	Protein ²⁾	Triglyceride	Total mineral	Total sugar
Tilapia	13.07±2.37 ^a	85.39±3.64 ^a (98.22) ³⁾	0.37±0.02 ^b (0.42)	0.85±0.30 ^{ab} (0.97)	0.22±0.02 ^b (0.25)
Red sea bream	11.29±2.24 ^a	87.48±3.47 ^a (98.61)	0.61±0.07 ^a (0.68)	0.23±0.10 ^b (0.25)	0.19±0.01 ^c (0.21)
Flounder	5.71±1.16 ^b	92.06±5.34 ^a (97.63)	0.31±0.04 ^b (0.32)	1.46±0.85 ^a (1.54)	0.27±0.01 ^a (0.28)

¹⁾Means in the same column for each species followed by different letters are significantly different according to Duncan's test ($P \leq 0.05$); mean±standard error (SE).

²⁾The conversion factor of 5.94 (tilapia), 5.83 (red sea bream), 5.84 (flounder) was used for calculation of the protein content.

³⁾Dry weight basis.

콜라겐의 일반성분 조성

세 어종 어피에서 산 가용성 콜라겐 추출법(Benjakul 등, 2012)으로 추출한 콜라겐이 함유하는 수분, 조단백질, 중성 지질, 총 미네랄, 총 구성당 함량을 조사하였다(Table 2). 고분자 콜라겐을 얻기 위하여 일반적 추출시간(72시간)보다 짧은 24시간 추출하였을 때 수율은 습식 중량 기준으로 틸라피아는 1.11%, 참돔은 1.79%, 넙치는 2.06%로 나타났다. 어피에서 콜라겐의 수율은 어종과 추출방법에 따라 1~40%까지 다양하게 나타난다(Benjakul 등, 2012). Pepsin 효소 반응 후 콜라겐을 추출하면 최대 70%까지 콜라겐 추출 수율을 높일 수 있었으나, 콜라겐의 tropocollagen 구조의 변형을 FTIR 스펙트럼으로 관찰 및 확인하였다(Duan 등, 2009; Nalinanon 등, 2010; Kittiphattanabawon 등, 2010). 탈염 후 농축한 콜라겐을 동결건조한 콜라겐의 수분 함량은 넙치가 다른 어피에 비해 낮게 함유되었다($P < 0.05$). 완전 건조 중량(dry basis)으로 환산한 콜라겐의 단백질 함량은 97.63~98.61%, 중성지질 함량은 0.32~0.68%, 총 미네랄 함량은 0.25~1.54%, 총 구성당 함량은 0.21~0.28%로 분석되었으며, 약 0.3%는 색소 등 다른 미량성분으로 판단된다. 어피에 지질을 많이 함유한 참돔이 콜라겐에서도 높은 지질 함량(0.68%)을 보였으며, 또한 회분을 많이 함유하는 넙치 어피의 콜라겐이 가장 높은 총 미네랄 함량(1.54%)을 나타내어 어피의 성분 조성이 콜라겐의 성분에 영향을 미치는 것으로 사료된다. 콜라겐의 총 구성당 함유량은 어피의 탄수화물 함량과 상관관계가 낮은 것으로 판단되며 넙치가 0.28%로 가장 높았고($P < 0.05$), 틸라피아, 참돔 순으로 나타났다. 수분, 조단백질, 지질, 회분을 각각 64.08%, 32.0%, 0.98%, 3.23% 함유하는 눈다랑어 어피(Kittiphattanabawon 등, 2005)로부터 추출한 콜라겐은 각각 수분 7.06%, 조단백질 94.0%, 지질 0.35%, 회분 0.73%로 본 연구와 달리 콜라겐의 회분 함량이 낮아졌으나, 다른 성분 조성의 변화는 본 연구와 유사하게 나타났다.

콜라겐 분자량 분포 조성

세 종의 어피로부터 추출한 콜라겐의 분자량 분포를 SDS-PAGE로 확인하였다(Fig. 2). 어피 콜라겐은 Type I 콜라겐으로 알려져 있으며 Type I의 콜라겐 단량체인 tropocollagen은 3개의 polypeptide 사슬로 이루어져 있는데,

Fig. 2. SDS-PAGE of fish skin collagen extracted by the final method. a, tilapia skin collagen; b, red sea bream skin collagen; c, flounder skin collagen.

2개의 α1 사슬(약 117.3 kDa)과 1개의 α2 사슬(약 107.4 kDa)로 이루어져 있으며 각 사슬은 약 1,000개의 아미노산 잔기로 구성된다(Daboor 등, 2010). 틸라피아(a lane), 참돔(b lane), 넙치(c lane) 콜라겐 모두 약 2:1의 비율로 α1 및 α2 사슬로 구성되어 있다(Fig. 2). 따라서 세 어피 콜라겐 모두 type I 콜라겐으로 확인되었다. α 사슬 외에도 세 어종의 어피 콜라겐에서 가교결합이 형성된 분자량이 약 220 kDa인 β 사슬(dimers)과 약 330 kDa인 γ 사슬(trimers)이 확인되었다. 모든 어피 콜라겐에서 α 사슬의 띠 강도보다 β 사슬과 γ 사슬의 띠 강도가 높게 나타나 본 연구에서 추출한 콜라겐은 고분자 형태의 콜라겐으로 판단된다. 일반 조건에서 추출한 콜라겐은 α 띠가 진하게 나타나고 β와 γ 띠의 강도가 낮게 나타난다(Maboud 등, 2014; Singh 등, 2011; Potaros 등, 2009; Zhang 등, 2016). 더불어 100 kDa 이하의 띠는 거의 관찰되지 않아 본 실험에서 추출한 콜라겐의 순도가 높은 것으로 예상된다. 육상동물의 콜라겐은 해양유래 콜라겐보다 콜라겐의 강도가 강한 것으로 알려져 있다. 이는 콜라겐의 가교결합량이 동물의 나이가 증가함에 따라 증가하기 때문이다(Zayas, 1997; Belitz 등, 2004). 어류 대부분의 가교결합 조직은 매년 갱신되며 고도로 가교된 가교 단백질은 일반적으로 어류에서 발견되지 않는다(Foegeding, 1996). 더 많은 가교를 가진 나이 든 동물의 콜라겐

조직은 swelling에 더 저항력이 있고 더 낮은 수분 보유 능력이 있다(Zayas, 1997). 동물이 성숙함에 따라 콜라겐 합성 속도가 느려지므로 성숙한 섬유소 콜라겐에서 점진적이고 지속적인 가교 반응이 일어난다(McCormick, 1994). 따라서 수명이 오래된 동물의 콜라겐은 가용화하기 어렵고 인장 강도가 높은 구조가 생성된다(Miller 등, 1983). 일반적으로 굵주린 물고기는 잘 먹인 물고기보다 더 많은 가교 콜라겐을 가지고 있다(Love 등, 1976). 그러나 일반적 환경에서 성장한 생선 껍질에서 콜라겐의 가교결합은 극히 낮은 것으로 보고되고 있다(Cohen-Solal 등, 1981).

아미노산 조성

콜라겐은 일반적으로 glycine(33%), proline(12%), alanine(11%), hydroxyproline(10%)으로 구성되어 있으나 lysine, tryptophan 등의 필수아미노산이 결핍되어 있다(Valenzuela-Rojo 등, 2018). Proline과 hydroxyproline의 pyrrolidine 고리는 polypeptide 사슬의 형태를 제한하고 삼중 나선을 강화하는 데 도움을 준다(Mahboob, 2014). 또한, Gly-Pro-Hyp 구조의 총 함량은 콜라겐의 열 안정성에 영향을 미치는 주요 요인 중 하나이며(Burjanadze, 2000), hydroxyproline 잔기는 콜라겐으로부터 유도되는 젤라틴의 중요한 기능적 특성인 겔 강도, 용융, 겔화 온도와 같은 물리적 특성에 많은 영향을 미치며, hydroxyproline과 proline의 함을 나타내는 imino acid 함량이 높을수록 콜라겐의 융점이 높고 콜라겐 분자 간 나선 형성 경향이 증가하는 것으로 알려져 있다(Gilsenan과 Ross-Murphy, 2000). 따라서 imino acid인 proline과 hydroxyproline 잔기의 함량은 콜

라겐의 물리적 특성에 있어 매우 중요하다고 알려져 있다(Yang과 Hong, 2012). 틸라피아, 참돔, 넙치 세 종의 어피와 어피에서 추출한 콜라겐을 산가수분해로 분해한 후 유리 아미노산을 분석하여 총 18가지의 아미노산을 검출하였다(Table 3). 산가수분해로 인해 tryptophane은 파괴되어 정량할 수 없었다. 세 어종 어피와 콜라겐에서 methionine, tyrosine, isoleucine 및 histidine의 조성은 1% 이하로 나타났다는데, 대구(Gudmundsson과 Hafsteinsson, 1997), 줄무늬메기(Singh 등, 2011), 나일농어(Muyonga 등, 2004) 등 어피에서도 유사한 결과를 보였다. 다른 종 사이의 아미노산 함량의 변화는 주로 서식지의 다양한 생활 환경, 특히 온도에 의한 영향으로 보고되었다(Muyonga 등, 2004). 단량체인 α1과 α2 사슬들은 약 1,000개 전후의 잔기로 이루어져 있어 콜라겐의 아미노산 조성을 표기할 때는 잔기 1,000개당 각 아미노산 잔기 수로 표기한다. 세 어피 콜라겐의 주요 아미노산으로 glycine(370~395 잔기), proline(144~157 잔기), alanine(125~131 잔기) 및 hydroxyproline(46~53 잔기)을 함유하고 있다. 세 어종 어피 콜라겐에서 glycine, proline, alanine 잔기의 함은 전체 아미노산의 67% 이상을 차지한다. 어피의 imino acid 함량은 틸라피아 151.1 잔기, 참돔 132.9 잔기, 넙치 124.3 잔기로 세 어종 중 열대어인 틸라피아가 가장 많은 양의 imino acid를 함유하였다. 어피에서 추출한 콜라겐의 imino acid는 틸라피아 210.7 잔기, 참돔 195.0 잔기, 넙치 191.7 잔기로 어피에서 보다 콜라겐의 imino acid 잔기 함량이 각각 1.39, 1.47, 1.54배 증가하였다. 본 연구의 틸라피아 imino acid 잔기는 Song 등(2021)의 틸라피아 콜라겐에서 imino acid 182.47

Table 3. Composition of amino acids of fish skin and collagen

(Unit: residues/1,000 residues)

Amino acid	Tilapia		Red sea bream		Flounder	
	Fish skin	Collagen	Fish skin	Collagen	Fish skin	Collagen
Aspartic acid	32.0±0.5	29.6±0.1	34.0±0.6	28.4±0.2	33.5±0.5	29.6±0.1
Hydroxyproline	53.3±1.0*	53.3±0.3	43.3±0.5	48.9±0.4	46.5±0.7*	46.8±0.5
Threonine	26.8±0.8	22.3±0.6	28.0±0.5	21.3±0.1	26.8±0.8	21.2±0.1
Serin	30.7±0.5	24.6±0.3	34.9±0.7	28.8±0.3	37.2±0.3	31.1±0.2
Glutamic acid	56.6±0.9	49.2±0.6	57.9±1.9	50.4±0.3	57.0±0.4	49.1±0.6
Proline	97.8±9.9	157.4±1.2	89.5±0.7	146.0±0.9	77.8±0.0	144.8±0.4
Glycine	381.1±5.2	387.8±0.8	370.7±2.9	400.2±1.6	395.6±1.3	399.6±0.4
Alanine	156.9±1.5	125.2±1.6	164.5±1.3	131.8±0.5	157.1±1.4	128.0±0.6
Valine	17.5±0.8	20.3±5.0	17.1±3.4*	15.1±0.5	18.0±0.9*	17.4±0.8
Cystine	0.6±0.0	ND	0.9±0.5	ND	0.7±0.3	ND
Methionine	7.7±0.5*	8.1±0.4	10.7±1.5*	11.6±0.6	10.8±0.2	12.6±0.5
Isoleucine	9.0±0.2	8.2±0.2	9.3±0.8	5.5±0.2	9.0±0.8	7.5±0.1
Leucine	24.7±0.7	19.7±0.6	25.1±0.9	16.3±0.2	22.2±0.4	15.9±0.7
Tyrosine	4.3±0.3	2.3±0.2	5.1±0.6	2.2±0.2	4.0±0.4	2.1±0.4
Phenylalanine	12.6±1.1*	10.9±0.3	14.4±1.8	11.1±0.0	13.4±1.1*	11.5±0.3
Histidine	5.0±0.4*	4.3±0.1	5.2±0.1	3.8±0.1	6.0±1.0	5.3±0.6
Lysine	21.9±0.4	19.6±0.1	24.3±1.0	21.5±0.3	24.1±0.8	21.6±0.2
Arginine	61.4±1.8*	57.3±2.3	65.1±1.0	57.1±1.3	60.6±1.9*	56.0±2.4
Imino acid	151.1±8.9	210.7±1.6	132.9±1.2	195.0±1.3	124.3±0.7	191.7±0.9
Gly-Pro-Hyp	532.3±3.8	598.5±2.4	503.6±3.7	595.2±2.9	519.8±0.7	591.3±1.3

*No significant difference between fish skin and collagen ($P>0.05$).

ND: not detect.

잔기보다 약간 높은 결과를 보였으며, 대구 콜라겐(102.29 잔기), 소 콜라겐(168.24 잔기)보다 높은 함량을 가지고 있었고 쥐꼬리 콜라겐(205.27 잔기)과 유사하였다(Carvalho 등, 2018). 냉수 어종의 콜라겐은 16~18%의 imino acid를 함유하고 낮은 변성 온도를 갖는다(Gilsenan과 Ross-Murphy, 2000; Gudmundsson과 Hafsteinsson, 2006; Norland, 1990). 콜라겐 분자에서 proline+hydroxyproline이 풍부한 영역은 수소 결합으로 안정화되는 접합 영역을 형성하여 콜라겐의 온도 안정성을 높여 준다 하였다(Johnston-Bank, 1990). 세 어종 중 틸라피아가 가장 높은 imino acid 잔기를 함유하여 콜라겐의 온도 안정성이 가장 높을 것으로 판단된다. 어피의 아미노산 조성과 어피에서 추출한 콜라겐 아미노산 조성을 비교하였을 때 콜라겐의 주요 아미노산인 Gly-Pro-Hyp 총량은 틸라피아 1.12배, 참돔 1.18배, 넙치 1.13배가 증가하였다. 또한 methionine 잔기가 약간 증가하였으며 그 외에 다른 아미노산 잔기들은 감소한 것으로 나타났다. 세 어종의 어피와 콜라겐의 아미노산 함량으로부터 Sosulski와 Imafidon(1990)의 방법에 따라 Nitrogen to Protein 전환 계수를 구하여 어피의 단백질 함량(Table 1)과 콜라겐의 단백질 함량(Table 2)을 산출하였다. 어피의 단백질 전환계수는 틸라피아(5.09), 참돔(5.07),

넙치(5.05)와 콜라겐의 단백질 전환계수는 틸라피아(5.94), 참돔(5.83), 넙치(5.84)를 사용하였다. 많은 연구에서 콜라겐의 단백질 전환계수로 6.25를 사용하였지만(Li 등, 2018; Valenzuela-Rojas 등, 2018; Yu 등, 2014; Pal과 Suresh, 2017), 육류에서 추출한 순수한 콜라겐은 5.55(Kolar, 1990)와 나일농어 어피에서 추출한 콜라겐은 5.4(Muyonga 등, 2004)의 단백질 전환계수를 사용하였다. 콜라겐에서 단백질 전환계수를 6.25로 사용할 경우 단백질 함량이 100% 이상이 되는 경우가 많이 발생하여 전환계수를 구해서 사용해야 한다.

지방산 조성

연구된 3종의 어피와 콜라겐의 지방산 조성을 GC에 의하여 정량하였고(Table 4) 지방산을 AOCs의 방법으로 증성 지질로 환산하였다(Table 1, Table 2). 총 24개의 지방산이 확인되었으며 어피의 주된 지방산은 세 어종 모두 palmitic acid(C16:0), oleic acid(C18:1), DHA(C22:6)로 확인되었다. Lee 등(2011)의 연구 결과 국내 연근해산 어류에 대하여 공통적인 주요 지방산은 C16:0, C18:0, C14:0 등과 같은 saturated fatty acid, 18:1n-7, 16:1n-7, 18:1n-7 등의 monoenoic fatty acid, 그리고 DHA, EPA 등과 같은 poly-

Table 4. Composition of fatty acids of fish skin and collagen

(Unit: %)

Fatty acid	Tilapia		Red sea bream		Flounder	
	Fish skin	Collagen	Fish skin	Collagen	Fish skin	Collagen
C14:0	3.90±0.57	ND	4.01±0.21	0.81±1.40	3.67±0.46	0.52±0.90
C14:1	0.30±0.04	ND	0.63±0.02	ND	0.64±0.04	ND
C15:0	0.28±0.04	ND	0.16±0.01	ND	0.74±0.22	ND
C16:0	19.39±2.69	33.40±1.63	18.71±0.35	33.99±1.85	18.61±0.99	35.73±0.69
C16:1	7.25±0.94	4.22±0.45	6.32±0.24*	7.02±0.78	6.70±0.10	4.93±0.19
C17:1	0.53±0.09	ND	0.38±0.01	ND	0.70±0.07	ND
C18:0	8.16±1.48	19.37±0.91	7.95±0.23	17.43±1.33	6.56±0.58	21.11±1.63
C18:1n9c	23.72±11.37	2.87±2.50	21.59±0.40	7.04±1.42	23.10±2.40	4.28±3.72
C18:2n6c	10.83±1.55*	8.50±0.53	6.15±0.62*	4.88±0.96	3.88±0.18*	3.03±1.25
C20:0	0.31±0.07	2.15±0.62	0.30±0.01	0.92±0.47	0.26±0.03	1.37±0.39
C18:3n6	0.93±0.13	ND	0.16±0.00	ND	0.08±0.08*	ND
C18:3n3	8.89±1.63	0.75±1.31	9.50±0.26	5.15±4.46	7.68±0.28*	2.89±3.14
C20:1n9	0.88±0.11*	0.47±0.81	0.62±0.01	ND	0.28±0.02	ND
C20:2n6	1.07±0.19	ND	0.87±0.05	ND	0.45±0.07	ND
C22:0	0.34±0.09	ND	0.35±0.01	ND	0.14±0.12	ND
C20:3n6	1.41±0.24	ND	0.20±0.01	ND	0.04±0.08	ND
C21:1n9	0.44±0.09	ND	0.78±0.02*	1.35±0.55	0.41±0.26	ND
C20:3n3	2.74±0.50	ND	1.54±0.38	1.72±2.97	3.31±0.45	ND
C20:4n6	0.31±0.02	ND	2.46±1.07	ND	0.74±0.08	ND
C22:2n6	0.02±0.04*	ND	0.03±0.01	ND	ND	ND
C24:0	ND	ND	ND	ND	4.90±8.49	ND
C20:5n3	0.90±0.11	ND	3.52±2.65	1.28±0.09	3.07±2.66	ND
C24:1n9	0.23±0.10	23.52±2.32	1.51±0.07	14.09±2.23	0.84±0.04	25.11±2.69
C22:6n3	7.16±1.21	1.62±0.42	12.26±0.06	4.34±0.50	13.19±1.45	1.03±0.90
Saturates	32.38±4.68	53.92±1.13	31.48±0.34	53.14±3.12	34.89±6.36	58.73±1.77
Monoenes	33.36±10.24*	32.36±37.39	31.83±0.44*	29.49±2.97	32.67±2.15*	34.32±2.66
Polyenes	34.26±5.59	13.72±6.60	36.69±0.75	17.37±0.41	32.44±4.23	6.95±2.94

*No significant difference between fish skin and collagen ($P>0.05$).

ND: not detect.

unsaturated fatty acid으로 분류하였는데, 본 연구에서 어피의 주요 지방산과 유사하였다. 세 어종 어피의 지방산 조성에서 palmitic acid(C16:0), oleic acid(C18:1n9), linoleic acid(C18:2n6), docosahexaenoic acid(C22:6n3)의 함량이 61.11%(틸라피아), 58.71%(참돔), 58.78%(넙치)를 차지하였다. 참돔 어피의 지방산 조성은 근육의 지방산 조성(115)과 유사하게 나타났다. 세 어종 어피의 지방산에서 각 polyunsaturated fatty acid, monoenoic fatty acid 및 saturated fatty acid의 비율이 약 30% 이상을 차지하고 있었으며 어종 간에 비율도 유사하게 나타났다($P>0.05$). 콜라겐의 주요 지방산은 palmitic acid(C16:0), octadecanoic acid(C18:0), nervonic acid(C24:1n9)였고, monoenoic fatty acid 31.83~34.32%, saturated fatty acid는 53.92~53.14%, polyunsaturated fatty acid는 6.95~17.37%였으며, 어피의 지방산 함량과 비교할 때 saturated fatty acid 비율이 높아졌는데 이는 palmitic acid가 3종 콜라겐에 33% 이상 함유되었기 때문이었다. 콜라겐에는 palmitic acid (16:0) 다음으로 stearic acid(18:0)나 nervonic acid가 많이 함유되어 있었다. 콜라겐에 함유된 지방산 조성 분석에 관한 연구가 검색되지 않았는데 돼지 지방산 콜라겐(fatty collagen, 65% 지방산 함유)의 ATR-FTIR 스펙트럼에는 1,000~3,000 cm^{-1} 영역에서 지방산 관련 peak가 검출되었다(Rýglová 등, 2021). 콜라겐 제조 과정에서 콜라겐을 0.5 M 초산으로 추출하고 pH를 중성으로 조정한 후 NaCl의 최종 농도가 2.6 M이 되게 첨가한다. 이때 콜라겐이 침전되는데 침전될 때 용액에 녹아 있는 지방산이나 중성지질 중에 주로 saturated fatty acid나 monoenoic fatty acid가 비극성 콜라겐의 표면에 흡착하여 콜라겐과 같이 침전하는 것으로 판단된다. 그러나 이와 관련하여 더 많은 연구가 진행되어야 할 것으로 사료된다. 콜라겐에 함유된 지방산은 콜라겐의 섬유 특성을 저하시킬 것으로 판단된다.

무기질 조성

세 종의 어피와 콜라겐의 미네랄 분석 결과는 Table 5에 나타내었으며, 검체 100 g당 mg으로 표시하였다. 세 어종

어피는 분석 미네랄 중 칼슘을 6.32~113.50 mg/100 g으로 가장 많이 함유하고 있었으며 특히 넙치 어피(113.50 mg/100 g)가 가장 많은 칼슘을 함유하였다. 그 외에 다량 함유 미네랄로 Mg, Na, Zn을 1 mg/100 g 이상 함유하였다. 세 어종 어피의 미네랄 함량은 연안산 어류의 미네랄 함량과 유사하게 나타났다(Mok 등, 2008). 콜라겐의 무기질 분석 결과 나트륨을 189.28~1,433.52 mg/100 g으로 넙치 콜라겐에 가장 많은 양을 함유하고 있었다. 이는 전처리 과정에서 NaOH 처리 중 콜라겐 조직 내 침투한 나트륨과 침전 과정 중의 NaCl이 탈염 과정에서 완전히 제거되지 못하여 나타난 결과로 생각된다. 탈염을 72시간 이상 하여도 Na 농도는 낮아지지 않아 콜라겐 사슬 내부의 아미노산과 염 형태로 결합되어 있을 가능성도 예상할 수 있다. 총 미네랄 함량은 틸라피아 854.83 mg, 참돔 231.04 mg, 넙치 1,457.17 mg을 함유하여 어피의 총 미네랄 함량과 비교해 콜라겐의 미네랄 함량은 11~56배 높았다. 송아지 가죽으로 콜라겐을 제조하는 과정 중 무기질의 함량을 낮추기 위해 세척 후 Carber press로 351 kgf/cm² 압력을 가하여 조직 내에 존재하는 미네랄을 용출하는 방법을 사용하여 Fe과 Cu는 5 mg/100 g, Ca은 2 mg/100 g, Cr과 Zn은 1 mg/100 g 이하로 제거할 수 있었다(Cassel과 Kanagy, 1949). 콜라겐 제조 방법 중 탈염 과정에 대한 연구가 더 진행되어야 할 것으로 사료된다.

당류 조성

이당류인 sucrose, cellobios, maltose, lactose와 단당류인 rhamnose, ribose, mannose, arabinose, galactose, xylose, glucose를 환원당 자동분석기로 분석하였다. 어피와 콜라겐 시료는 산으로 가수분해하여 분석하였기 때문에 이당류는 검출되지 않았다(Table 6). 세 어종의 어피에서 galactose > glucose > mannose > arabionse > ribose 순서로 높은 당 함량을 보였다. 어피의 총 구성당 함량은 틸라피아(69.57 mg/100 g), 넙치(65.20 mg/100 g), 참돔(55.89 mg/100 g)이었다. 세 어종의 콜라겐은 galactose(146.82~166.98 mg/100 g)를 가장 많이 함유하고 있었으며 다음으로 glucose(38.89~65.20 mg/100 g), mannose(3.38~

Table 5. Mineral contents of fish skin and collagen

(Unit: mg/100 g)

Mineral	Tilapia		Red sea bream		Flounder	
	Fish skin	Collagen	Fish skin	Collagen	Fish skin	Collagen
Ca	6.50±0.41	3.47±0.64	6.32±0.85	4.16±0.78	113.50±32.51	9.42±0.25
K	0.76±0.12*	1.00±0.30	0.93±0.05*	1.42±0.30	1.51±0.07	6.71±8.67
Mg	2.47±0.56	0.41±0.04	3.66±0.37	0.53±0.02	4.48±0.18	0.72±0.01
Na	2.11±0.52	835.11±308.0	2.11±0.7	189.28±100.9	4.95±0.73	1,433.52±848.2
Cu	0.05±0.05*	1.68±1.17	0.07±0.01	2.62±1.03	0.06±0.01*	0.67±0.54
Fe	0.44±0.02*	8.77±5.58	0.39±0.02	20.45±5.49	1.70±0.00*	3.44±1.12
Mn	0.02±0.01*	0.32±0.14	0.02±0.00	0.72±0.24	0.18±0.01*	0.19±0.09
Ni	0.03±0.01	1.44±0.86	0.05±0.02	4.38±2.19	0.06±0.04*	0.44±0.28
Zn	2.68±0.28*	2.64±2.07	1.38±0.24	7.48±1.70	0.61±0.09*	2.07±0.92
Total	15.05±2.54	854.83±303.72	14.93±2.98	231.04±98.80	127.05±62.28	1,457.17±849.07

*No significant difference between fish skin and collagen ($P>0.05$).

Table 6. Sugar contents of fish skin and collagen

(Unit: mg/100 g)

Sugar	Tilapia		Red sea bream		Flounder	
	Fish skin	Collagen	Fish skin	Collagen	Fish skin	Collagen
Sucrose	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Cellobios	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Maltose	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Lactose	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Rhamnose	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ribose	3.95±0.43	ND	7.26±0.24	ND	7.71±0.29	ND
Mannose	15.24±1.13	5.33±2.24	11.33±1.08	3.38±0.48	14.13±0.78	30.11±0.61
Arabinose	6.47±1.24	ND	3.12±0.19	ND	3.02±0.15	ND
Galactose	43.92±2.66	153.11±16.59	34.18±2.08	146.82±10.36	40.34±2.08	166.98±5.44
Xylose	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Glucose	22.59±2.07	59.74±2.68	14.89±3.49	38.89±2.30	12.16±0.86	65.20±3.10
Total	69.57±5.44	158.45±17.83	55.89±3.14	150.21±10.77	65.20±3.10	197.26±5.72

ND: not detect.

30.11 mg/100 g) 순이었다. 콜라겐의 galactose와 glucose 함량은 어피에 함유된 양보다 약 세 배 높게 검출되었다. 콜라겐의 총 구성당 함량은 넙치(197.26 mg/100 g)가 가장 많이 함유하였고 틸라피아는 158.45 mg/100 g, 참돔은 150.21 mg/100 g이었다. 콜라겐에 함유된 당류가 유리당 이라면 단당류는 극성이 높아 세척 과정 중에 제거되어 콜라겐에 낮은 함량을 보여야 하지만, 콜라겐은 어피보다 더 높은 당을 함유하고 있어 콜라겐에 함유된 당은 콜라겐 분자에 결합된 구성당으로 사료된다. 다른 종류의 단당류가 일부 어류와 무척추동물 콜라겐에서도 발견되었는데(Benjakul 등, 2012), 이들은 O-glycoside 결합에 의해 peptide 사슬의 hydroxylysine 잔기에 결합하는데, 2-O- α -D-glucosyl-O- β -D-galactosyl-hydroxylysine과 O- β -D-galactosyl-hydroxylysine 결합이 확인되었다(Belitz 등, 2004). 일부 어류와 무척추동물 콜라겐은 소량의 arabinose, xylose와 ribose도 함유하고 있다(Kimura, 1972). 이렇게 hydroxylysine에 연결된 단당류는 콜라겐의 섬유소 구조에 영향을 미칠 수 있다고 하였다(Sikorski 등, 1990).

요 약

본 연구에서는 콜라겐 추출 방법으로 많이 사용되는 산 가용성 콜라겐 추출법을 이용하여 틸라피아, 참돔, 넙치 세 어종 어피에서 콜라겐을 추출하여 어피와 추출된 콜라겐의 성분 조성을 확인하고자 하였다. 콜라겐의 추출 수율은 틸라피아 1.11%, 참돔 1.79%, 넙치 2.06%였으며, 단백질 함량은 틸라피아 85.39%, 참돔 87.48%, 넙치가 92.06%를 함유하여 모든 콜라겐이 85% 이상의 단백질을 함유하고 있었다. 아미노산 조성은 어피와 콜라겐 모든 시료에서 glycine이 가장 높은 비중을 차지하였으며, imino acid(proline+hydroxyproline) 함량은 틸라피아 어피와 콜라겐에서 각각 151.1과 210.7 잔기/1000 잔기로 가장 많은 함량을 나타내었다. 총 중성지방은 세 어종 중 참돔이 14.71%로 가장 많은 양을

함유하였으며, 각 어종에서 추출된 콜라겐은 모두 0.7% 이하의 중성지방을 함유하였다. 지방산 분석 결과 어피의 주요 지방산은 palmitic acid(C16:0), oleic acid(C18:1), DHA(C22:6)로 일반적으로 알려진 어류의 주요 지방산과 유사하였으며, 세 어종 어피의 지방산에서 각 polyunsaturated fatty acid, monoenoic fatty acid 및 saturated fatty acid의 비율이 약 30% 이상을 차지하고 있었고 어종 간에 비율도 유사하게 나타났다($P>0.05$). 추출된 콜라겐의 주요 지방산은 palmitic acid(C16:0), stearic acid(C18:0), nervonic acid(C24:1)였고, unsaturated fatty acid는 어피와 비교해 낮은 함량을 보였지만 saturated fatty acid 비율은 증가하였다. 무기질 함량은 어피에서 칼슘이 가장 많은 함량을 차지했으며 넙치 어피는 446.84 mg/100 g으로 가장 많은 양을 함유하였다. 추출된 콜라겐에서 나트륨이 가장 높은 미네랄 성분이었으며 넙치 콜라겐이 1,433.52 mg/100 g으로 가장 많은 양을 함유하였다. 콜라겐에는 galactose, glucose, mannose를 함유하였고 galactose와 glucose는 어피보다 3배 이상 높은 함량을 보였다. 총 당 함량은 어피보다 콜라겐이 2배 이상 높게 나타났다. 콜라겐에 함유된 미량성분들은 콜라겐이 화장품이나 식품으로 사용될 때 안전성 문제가 되지 않으나, 의약품이나 생체재료로 사용될 경우 혼입된 성분들의 영향을 고려해야 할 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 2021년도 산업통상자원부 및 산업기술평가 관리원(KEIT) 연구비 지원에 의한 연구임(2021-2714).

REFERENCES

- Agren MS. Collagens in wound healing. In: Wound Healing Biomaterials. 1st ed. Woodhead Publishing, Sawston, UK. 2016. Vol 2, p 171-201.
- Ahn H, Gong DJ, Lee HH, Seo JY, Song KM, Eom SJ, et al.

- Mechanical properties of porcine and fish skin-based collagen and conjugated collagen fibers. *Polymers*. 2021. 13:2151. <https://doi.org/10.3390/polym13132151>
- Ali AMM, Kishimura H, Benjakul S. Extraction efficiency and characteristics of acid and pepsin soluble collagens from the skin of golden carp (*Probarbus Jullieni*) as affected by ultrasonication. *Process Biochem*. 2018. 66:237-244.
- AOAC. Official method of analysis. 18th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA. 2005.
- Belitz HD, Grosch W, Schieberle P. Meat. In: Belitz HD, Grosch W, Schieberle P, editors. *Food Chemistry*. 3rd ed. Springer-Verlag, Berlin, Germany. 2004. p 566-616.
- Benjakul S, Nalinanon S, Shahidi F. Fish collagen. In: Benjamin KS, editor. *Food Biochemistry and Food Processing*. 2nd ed. John Wiley & Sons, Inc., New York, NJ, USA. 2012. p 365-387.
- Burjanadze TV. New analysis of the phylogenetic change of collagen thermostability. *Biopolymers*. 2000. 53:523-528.
- Caryvalho AM, Marques AP, Silva TH, Reis RL. Evaluation of the potential of collagen from codfish skin as a biomaterial for biomedical applications. *Mar Drugs*. 2018. 16:495. <https://doi.org/10.3390/md16120495>
- Cassel JM, Kanagy JR. Studies on the purification of collagen. *J Res Natl Bur Stand*. 1949. 42:557-565.
- Chen S, Chen H, Xie Q, Hong B, Chen J, Hua F, et al. Rapid isolation of high purity pepsin-soluble type I collagen from scales of red drum fish (*Sciaenops ocellatus*). *Food Hydrocolloids*. 2016. 52:468-477.
- Cohen-Solal L, Le Lous M, Allain JC, Meunier F. Absence of maturation of collagen crosslinks in fish skin. *FEBS Letter*. 1981. 123:282-284.
- Daboor SM, Budge SM, Ghaly AE, Brooks SL, Dave D. Extraction and purification of collagenase enzymes: a critical review. *Am J Biochem Biotechnol*. 2010. 6:239-263.
- Dong C, Lv Y. Application of collagen scaffold in tissue engineering: recent advances and new perspectives. *Polymers*. 2016. 8:42. <https://doi.org/10.3390/polym8020042>
- Duan R, Zhang J, Du X, Yao X, Konno K. Properties of collagen from skin, scale and bone of carp (*Cyprinus carpio*). *Food Chem*. 2009. 112:702-706.
- Foegeding EA. Characteristics of edible muscle tissues. In: Fennema OR, editor. *Food Chemistry*. Marcel Dekker Inc., New York, NS, USA. 1996. p 902-906.
- Gauza-Włodarczyk M, Kubisz L, Mielcarek S, Włodarczyk D. Comparison of thermal properties of fish collagen and bovine collagen in the temperature range 298-670 K. *Mater Sci Eng C*. 2017. 80:468-471.
- Gilsenan PM, Ross-Murphy SB. Rheological characterisation of gelatins from mammalian and marine sources. *Food Hydrocolloids*. 2000. 14:191-195.
- Griffiths MJ, Vanhille RP, Harrison STL. Selection of direct transesterification as the preferred method for assay of fatty acid content of microalgae. *Lipid*. 2010. 45:1053-1060.
- Gudmundsson M, Hafsteinsson H. Gelatin from cod skins as affected by chemical treatments. *J Food Sci*. 2006. 62:37-39.
- Hashim P, Ridzwan M, Bakar J, Hashim D. Collagen in food and beverage industries. *Int Food Res J*. 2015. 22:1-8.
- Jafari H, Lista A, Siekapen MM, Ghaffari-Bohloul P, Nie L, Alimoradi H, et al. Fish collagen: Extraction, characterization, and applications for biomaterials engineering. *Polymers*. 2020. 12:2230. <https://doi.org/10.3390/polym12102230>
- Jeong SI, Kim SY, Cho SK, Chong MS, Kim KS, Kim H, et al. Tissue-engineered vascular grafts composed of marine collagen and PLGA fibers using pulsatile perfusion bioreactors. *Biomaterials*. 2007. 28:1115-1122.
- Johnston-Bank FA. Gelatin. In: Harris P, editor. *Food Gels*. Elsevier Applied Science, London, UK. 1990. p 233-289.
- Kan M, Qian X, Zhang T, Yue D, Zhao Y. Highly active IrOx nanoparticles/black si electrode for efficient water splitting with conformal TiO2 interface engineering. *ACS Sustainable Chem Eng*. 2017. 5:10940-10946.
- Kimura S. Studies on marine invertebrate collagen type V. The neutral sugar composition and glycosylated hydroxylysine contents of several collagens. *Bull Jpn Soc Sci Fish*. 1972. 38:1153-1161.
- Kittiphattanabawon P, Benjakul S, Visessanguan W, Kishimura H, Shahidi F. Isolation and characterisation of collagen from the skin of brownbanded bamboo shark (*Chiloscyllium punctatum*). *Food Chem*. 2010. 119:1519-1526.
- Kittiphattanabawon P, Benjakul S, Visessanguan W, Nagai T, Tanaka M. Characterisation of acid-soluble collagen from skin and bone of bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*). *Food Chem*. 2005. 89:363-372.
- Kolar K. Colorimetric determination of hydroxyproline as measure of collagen content in meat and meat products: NMKL collaborative study. *J Assoc Off Anal Chem*. 1990. 73:54-57.
- Lee DS, Yoon HD, Kim YK, Yoon NY, Moon SK, Kim IS, et al. Proximate and fatty acid compositions of 14 species of coastal and offshore fishes in Korea. *Kor J Fish Aquat*. 2011. 44:569-576.
- Li J, Wang M, Qiao Y, Tian Y, Liu J, Qin S, et al. Extraction and characterization of type I collagen from skin of tilapia (*Oreochromis niloticus*) and its potential application in biomedical scaffold material for tissue engineering. *Process Biochem*. 2018. 74:156-163.
- Love RM, Yamaguchi K, Creach Y, Lavety J. The connective tissues and collagens of cod during starvation. *Comp Biochem Physiol Part B*. 1976. 55:487-492.
- Maboud AN, Zahara M, Reza NM. Isolation and purification of collagen from the skin of black pomfret (*Parastromateus niger*) for tissue engineering purpose. *J Tissue Eng Res*. 2014. 1:18-21.
- Mahboob S. Isolation and characterization of collagen from fish waste material- skin, scales and fins of *Catla catla* and *Cirrhinus mrigala*. *J Food Sci Technol*. 2014. 52:4296-4305.
- McCormick RJ. Structure and properties of tissues. In: Breidenstein BC, Kinsman DM, Kotula AW, editors. *Muscle Foods: Meat Poultry and Seafood Technology*. Chapman and Hall, New York, NJ, USA. 1994. p 54-58.
- Miller AT, Karmas E, Fulu M. Age-related changes in the collagen of bovine corium: studies on extractability. Solubility and molecular size distribution. *J Food Sci*. 1983. 48:681-685.
- Mok JS, Lee DS, Yoon HD. Mineral content and nutritional evaluation of fishes from the Korean coast. *Korean J Fish Aquat Sci*. 2008. 41:315-323.
- Muller WEG. The origin of metazoan complexity: porifera as integrated animals. *Integr Comp Biol*. 2003. 43:3-10.
- Murphy CM, Haugh MG, O'Brien FJ. The effect of mean pore size on cell attachment, proliferation and migration in collagen-glycosaminoglycan scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*. 2010. 31:461-466.
- Muyonga JH, Cole CGB, Duodu KG. Characterisation of acid soluble collagen from skins of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*). *Food Chem*. 2004. 85:81-89.
- Nalinanon S, Benjakul S, Kishimura H. Collagens from the skin of arabesque greenling (*Pleurogrammus azonus*) solubilized with the aid of acetic acid and pepsin from albacore tuna (*Thunnus alalunga*) stomach. *J Sci Food Agric*. 2010. 90:

- 1492-1500.
- Norland RE. Fish gelatin. In: Voight MN, Botta JK, editors. *Advances in Fisheries Technology and Biotechnology for Increased Profitability*. Technomic Publishing, Lancaster, UK. 1990. p 325-333.
- Oh GW, Jung WK. Biomedical materials for regenerating bone tissue utilizing marine invertebrate. *Korean J Fish Aquat Sci*. 2015. 48:1-15.
- Pal GK, Suresh PV. Comparative assessment of physico-chemical characteristics and fibril formation capacity of thermo-stable carp scales collagen. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2017. 70:32-40.
- Potaros T, Rakskulthai N, Runglerdkreangkrai J, Worawattana-mateekul W. Characteristics of collagen from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin isolated by two different methods. *Kasetsart J (Nat Sci)*. 2009. 43:584-593.
- Rýglová S, Braun M, Hřál M, Suchý T, Vöröš D. The proportion of the key components analysed in collagen-based isolates from fish and mammalian tissues processed by different protocols. *J Food Compos Anal*. 2021. 103:104059. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.104059>
- Sahiner M, Alpaslan D, Bitlisli BO. Collagen-based hydrogel films as drug-delivery devices with antimicrobial properties. *Polym Bull*. 2014. 71:3017-3033.
- Shin TS, Xue Z, Do YW, Jeong SI, Woo HC, Kim NG. Chemical properties of sea tangle (*Saccharina japonica*) cultured in the different depths of seawater. *Clean Technol*. 2011. 17:395-405.
- Shoulders MD, Raines RT. Collagen structure and stability. *Annu Rev Biochem*. 2009. 78:929-958.
- Sikorski ZE, Kolakowska A, Pan BS. The nutritive composition of the major groups of marine food organisms. In: Sikorski ZE, editor. *Seafood: Resources, Nutritional Composition and Preservation*. CRC Press, Boca Raton, FL, USA. 1990. p 29-54.
- Silver FH. The importance of collagen fibers in vertebrate biology. *J Eng Fibers Fabr*. 2009. 4:9-17.
- Singh P, Benjakul S, Maqsood S, Kishimura H. Isolation and characterisation of collagen extracted from the skin of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*). *Food Chem*. 2011. 124:97-105.
- Song Z, Liu H, Chen L, Chen L, Zhou C, Hong P, et al. Characterization and comparison of collagen extracted from the skin of the Nile tilapia by fermentation and chemical pretreatment. *Food Chem*. 2021. 340:128139. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128139>
- Sosulski FW, Imafidon GI. Amino acid composition and nitrogen-to-protein conversion factors for animal and plant foods. *J Agric Food Chem*. 1990. 38:1351-1356.
- Tan Y, Chang SKC. Isolation and characterization of collagen extracted from channel catfish (*Ictalurus punctatus*) skin. *Food Chem*. 2018. 242:147-155.
- Tonndorf R, Aibibu D, Cherif C. Collagen multifilament spinning. *Mater Sci Eng C*. 2020. 106:110105. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110105>
- Truong TMT, Nguyen VM, Tran TT, Le TMT. Characterization of acid-soluble collagen from food processing by-products of snakehead fish (*Channa striata*). *Processes*. 2021. 9:1188. <https://doi.org/10.3390/pr9071188>
- Valenzuela-Rojó DR, López-Cervantes J, Sánchez-Machado DI. Tilapia (*Oreochromis aureus*) collagen for medical biomaterials. In: Maiti S, editor. *Seaweed Biomaterials*. IntechOpen, London, UK. 2018. p 47-66.
- Veeruraj A, Arumugam M, Ajithkumar T, Balasubramanian T. Isolation and characterization of collagen from the outer skin of squid (*Doryteuthis singhalensis*). *Food Hydrocoll*. 2015. 43:708-716.
- Wang E, Han J, Zhang X, Wu Y, Deng XL. Efficacy of a mineralized collagen bone-grafting material for peri-implant bone defect reconstruction in mini pigs. *Regen Biomater*. 2019. 6: 107-111.
- Xu HY, Xu H, Zhang L, Qu XX, Zhao BD. Absorbable collagen suture and non-absorbable silk suture in oral implantation. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2014. 18:1877-1882.
- Yang SJ, Hong JH. Extraction and physicochemical properties of collagen from squid (*Todarodes pacificus*) skin and Alaska pollack (*Theragra chalcogramma*) skin. *Korean J Food Cook Sci*. 2012. 28:711-719.
- Yu D, Chi CF, Wang B, Ding GF, Li ZR. Characterization of acid- and pepsin-soluble collagens from spines and skulls of skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*). *Chin J Nat Med*. 2014. 12:712-720.
- Zayas JF. *Functionality of proteins in food*. Springer, Berlin, Germany. 1997. p 11.
- Zhang Q, Wang Q, Lv S, Lu J, Jiang S, Regenstein JM, et al. Comparison of collagen and gelatin extracted from the skins of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Food Biosci*. 2016. 13:41-48.
- Zhang Y, Liu W, Li G, Shi B, Miao Y, Wu X. Isolation and partial characterization of pepsin-soluble collagen from the skin of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Food Chem*. 2007. 103:906-912.