

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국



(10) 국제공개번호

(43) 국제공개일
2017년 11월 23일 (23.11.2017) WIPO PCT

WO 2017/200340 A2

(51) 국제특허분류:

A23K 10/12 (2016.01) A23K 10/30 (2016.01)
A23K 20/147 (2016.01) A23K 50/40 (2016.01)
A23K 40/10 (2016.01) A23K 50/42 (2016.01)
A23K 40/20 (2016.01)

(21) 국제출원번호: PCT/KR2017/005232

(22) 국제출원일: 2017년 5월 19일 (19.05.2017)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(30) 우선권정보:
10-2016-0062001 2016년 5월 20일 (20.05.2016) KR

(71) 출원인: 주식회사 미작바이오 (MISSARKBIO CO., LTD.) [KR/KR]; 54576 전라북도 익산시 왕궁면 동촌제길 10, 에프253호 (국가식품클러스터 식품벤처센터), Jeollabuk-do (KR).

(72) 발명자: 김구환 (KIM, Goo Whan); 32837 충청남도 계룡시 두마면 사계로 101, 110동 903호 (계룡더샵아파트), Chungcheongnam-do (KR).

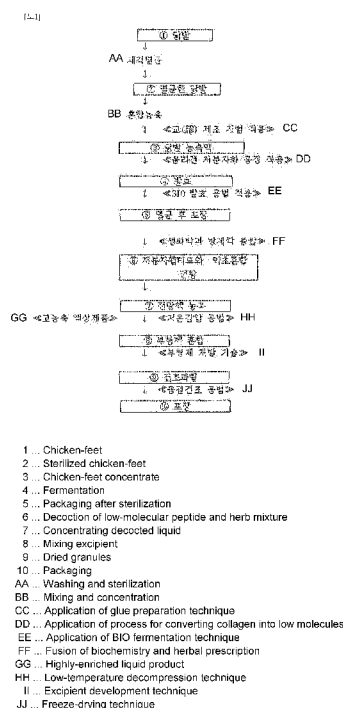
(74) 대리인: 정문영 (CHUNG, Moon Yung); 06596 서울시 서초구 서초대로 49길 18 상림빌딩 304호 마크코리아특허법률사무소, Seoul (KR).

(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(54) Title: LOW-MOLECULAR COLLAGEN PEPTIDE AND METHOD FOR PREPARING FOOD COMPOSITION BY USING SAME

(54) 발명의 명칭: 저분자 콜라겐 펩티드 및 이를 이용한 식품 조성물의 제조 방법



(57) Abstract: The present invention relates to a low-molecular collagen peptide and a method for preparing a food composition by using the same and, more specifically, to a method for preparing a low-molecular collagen peptide, the method sterilizing chicken-feet under high pressure steam, degrading the same with a weak acid containing calcium hydride, removing fat from the degraded chicken-feet and concentrating the same, and then putting mixed lactic acid bacterial strains therein so as to cause fermentation, and to a method for preparing: a companion animal nutritional supplement composition, the method preparing a decocted liquid by preparing the low-molecular collagen peptide prepared by the method therefor, mixing, with the peptide, medicinal herbs including *Rhynchosia Nolubilis*, black soybean, *Nelumbo nucifera* Gaertner seeds, and *Myristica fragrans* Houttuyn seeds, and concentrating the same by means of a low-temperature decompression process; and a food composition, the method preparing a decocted liquid extracted by mixing, with the peptide, medicinal herbs including *Acyranthes bidentate* Blume, *Eucommia ulmoide*, *Carthami Flos* seeds, Chinese quince, *Cinnamomi Ramulus*, and acanthopanax. The present invention increases safety when used in food, medicine, cosmetics and the like, by using calcium hydride, which is not a strong acid such as sulfuric acid or hydrochloric acid, which is used in a conventional preparation of a low-molecular collagen peptide. The companion animal nutritional supplement composition prepared by using the prepared low-molecular collagen peptide is a prescribed nutritional supplement, which satisfies a preference of a companion animal and reflects the habits and tastes of a carnivorous companion animal, thereby being widely applicable to dermatitis, fungal skins, knee joint and hip joint dislocation caused by musculoskeletal weakness, fracture diseases and the like.

**공개:**

- 국제조사보고서 없이 공개하며 보고서 접수 후 이를 별도로 공개함 (규칙 48.2(g))

(57) 요약서: 본 발명은 콜라겐 저분자 펩티드 및 이를 이용한 식품 조성물의 제조 방법에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 닭발을 고압증기멸균시키고, 이를 수소칼슘을 함유한 약산으로 분해시키며, 분해된 닭발에서 지방을 제거하고 농축한 후, 여기에 혼합 유산균주를 투입하여 발효시키는 콜라겐 저분자 펩티드의 제조 방법 및 상기 방법으로 콜라겐 저분자 펩티드를 제조하고 여기에 쥐눈이콩, 검은콩, 연자육 및 육두구를 포함하는 약초와 혼합하고 저온감압공법으로 농축하여 전탕액을 제조하는 반려동물 영양보충용 조성물과 우슬, 두충, 홍화씨, 모과, 계지 및 오가피를 포함하는 약초와 혼합하여 추출한 전탕액을 제조하는 식품 조성물의 제조 방법에 관한 것이다. 본 발명은 종래의 콜라겐 저분자 펩티드의 제조시에 사용되는 황산이나 염산과 같은 강산이 아닌 수소칼슘을 사용함으로써 식품, 의약품, 화장품 등에 활용시 안전성을 높였으며, 상기 제조된 콜라겐 저분자 펩티드를 이용하여 제조된 반려동물 영양보충용 조성물은 반려동물의 기호도를 충족시키면서 육식성 반려동물의 습성과 체질을 반영한 처방식 영양제로서 피부염, 곰팡이성 피부, 근골격이 약화되어 발생하는 슬관절 및 고관절 탈구, 골절 질환 등에 광범위하게 적용할 수 있다.

명세서

발명의 명칭: 저분자 콜라겐 펩티드 및 이를 이용한 식품 조성물의 제조 방법

기술분야

- [1] 본 발명은 저분자 콜라겐 펩티드 및 이를 이용한 식품 조성물의 제조 방법에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 수소칼슘을 함유한 약산을 활용하는 저분자 콜라겐 펩티드의 제조방법 및 상기 방법을 제조된 콜라겐 저분자 펩티드를 함유한 반려동물 영양보충용 조성물의 제조 방법에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 콜라겐은 대부분 동물에서 발견되는 단백질로 특히 포유동물의 살과 결합조직을 구성하는 주요 단백질이다. 신체를 구성하는 단백질 중 25%에서 35%를 차지할 정도로 매우 풍부하다. 늘어난 섬유 형태의 콜라겐은 주로 힘줄, 인대, 피부와 같은 섬유조직에 존재하며 각막, 연골조직, 뼈, 혈관, 소화관, 척추원반 등에도 존재한다.
- [3] 근육조직에서 콜라겐은 근내막의 주요 구성성분으로 작용한다. 콜라겐은 분자량 30만으로 분자량 10만의 α 사 3개가 모여 γ 사를 이루는데 40잔기에 1회전하는 오른쪽 회전의 나선을 만든다. 직경 1.5nm 길이 300nm의 삼중나선구조이다. α 사슬은 다소의 수소결합에 의해 강하게 결합되어 있으며 microfibril이 모여들게 되면 공유가교결합에 의해 콜라겐 세섬유가 되고 이들이 모여서 섬유(fiber)가 된다.
- [4] 콜라겐은 다른 단백질들과 마찬가지로 유전자정보에 따라 구조, 합성량 등이 결정된다. 콜라겐에 관한 분자생물학, 생화학의 연구는 최근 현저히 진보하여 그 구조에 대해 상세하게 해명되어가고 있다. 콜라겐이라는 주제로 문헌을 검색하면 일년에도 만여 개 이상의 문헌이 발표되고 있는 것을 알 수 있다. 현재까지 분자의 종류에 따라 13종 이상, 폴리펩티드 사슬의 종류로 22종 이상이 보고되어 있다. 일반적으로 다른 단백질과의 차이점은 콜라겐 단백질이 단독으로 존재하는 한 개의 분자로서의 기능은 없으며, 다수의 분자가 회합하여 고차구조체를 형성하여야만 비로소 생체 중에서 그 역할을 담당한다는 것이다.
- [5] 또한 콜라겐은 인체 내에서 양적 및 기능적으로 가장 큰 부분을 차지하는 단백질로, 인체 내 모든 세포의 뼈대를 형성하는 세포외 기질(extracellular matrix), 보다 구체적으로 결합조직(connective tissue)의 주요 구성인자를 의미한다. 콜라겐을 다량 함유하는 인체 조직으로는 피부(skin), 뼈 및 연골 등의 골(bone) 조직, 건(tendon), 인대(ligament) 등이 있다. 이러한 조직들의 노화로 인해 피부 주름 및 처짐, 골다공증 등의 인체 노화 질환들이 비롯되며, 이는 조직의 콜라겐 합성 감소로 인한 체내 콜라겐 양 및 기능 감소에 의한 것으로 알려져 있다.

- [6] 콜라겐 아미노산 조성의 특징은 글리신(Glycine)이 전체의 약 1/3을 차지하는 것이다. 그리고 전체의 2/9가 프롤린(Proline) 또는 하이드록시프롤린(Hydroxy-proline)으로 구성되어 있다. 하이드록시프롤린은 콜라겐 유전자의 해독 펩티드상의 프롤린이 분자상의 산소에 의해 4위의 탄소가 수산화되면서 생성된다. 아미노산(Proline 또는 Hydroxyproline)의 함량은 동물의 종류, 특히 그 동물의 서식하는 체온의 상한에 따라 다르며, 2/9라고 하는 것은 조류, 포유류 등 항온동물의 경우이다. 즉, 콜라겐 구조의 열 안정성은 아미노산 함량에 따라 달라지는데, 특히 하이드록시프롤린량에 따라 결정된다.
- [7] 하이드록시프롤린은 콜라겐 이외의 단백질에서는 거의 볼 수 없으며(elastin에는 다소 존재), 또한 펩티드중에 들어가 있는 프롤린만이 수산화되어 하이드록시프롤린이 된다는 점으로부터 하이드록시프롤린의 정량에 의해 콜라겐 양을 측정할 수 있다 (하이드록시프롤린 함량이 약 10%이므로 하이드록시프롤린이 100 μ g인 경우, 콜라겐으로서는 약 1mg).
- [8] 하이드록시프롤린의 정량은 전체 콜라겐 단백질의 합성량, 분해량 등의 지표로써 사용된다. 그러나 콜라겐중의 하이드록시프롤린 함량은 콜라겐의 형태(유전자)뿐 아니라, 동물조직, 세포가 합성할 때의 조건(환경조건) 등에 따라 변동한다.
- [9] 글루탐산(Glutamic acid)이나 아스파르트산(aspartic acid)의 양에 비해 리신(lysine), 아르기닌(arginine)의 양이 많고, 콜라겐 펩티드 전체의 전하는 중성pH에 있어서 양전하를 띤다. 즉, 등전점이 염기성으로 볼 수 있다. 글리신이 많고, 소수성 아미노산이 적은 것으로부터 분자의 용적이 작고 (구상단백질의 경우 0.75인데 비해 콜라겐은 0.70정도), 또한 아미노산의 평균 잔기 분자량이 100이하(구상단백질은 대체적으로 110)이다.
- [10] 콜라겐의 체내 생성량은 연령에 따라 감소하게 되는데 20대에 콜라겐 생성량이 최대이며, 40대는 70% 수준으로 생성되고 이후 급격히 감소하는 것으로 알려져 있다. 따라서, 콜라겐은 체내 생성되는 물질이 아니기에 식품 등으로 섭취를 해야 할 필요가 있다.
- [11] 콜라겐은 분자량에 따라 고분자 콜라겐과 저분자 콜라겐으로 나눌 수 있다. 고분자 콜라겐은 일반적으로 분자량 5,000 Da. 이상의 것을 일컫는데, 분자량이 큰 만큼 체내 흡수율이 떨어지고, 기능성을 나타내기가 힘들다. 따라서, 분자량 5,000이상의 고분자 콜라겐은 일반 식품 등에 사용되고 있다. 반면 저분자 콜라겐은 분자량 1,500 Da. 이하의 것으로 체내 흡수율이 높아 피부 탄력 등의 기능성을 기대할 수 있다. 일반적으로 저분자 콜라겐은 건강기능식품, 화장품 및 일반의약품 등에 사용된다.
- [12] 콜라겐은 인체 내 구성성분이기도 하지만 육류 및 어류에도 다량 존재한다. 특히 돼지 껍데기, 닭 날개, 도가니탕, 닭 발 등에 많이 존재한다고 알려져 사람들이 많이 섭취하고 있다. 일반적으로 동물성 식품 중 육류 제품을 통해 콜라겐을 섭취하고 있지만, 식물성 식품 내 콜라겐 함량도 소량이지만 존재한다.

주로 콧감, 두충차, 감잎차 등에 있는데, 이와 같은 식품의 섭취를 통해서도 콜라겐 효과를 기대하기 어려운 측면이 있다.

- [13] 한편, 피부노화와 밀접하게 관련이 있는 진피의 결합조직은 주로 콜라겐과 엘라스틴 등으로 이루어지며, 콜라겐은 결합 조직의 주된 단백질로 진피 건조 중량의 70~80%를 차지하여 피부에 탄성과 힘을 주며 보습의 유지에 큰 역할을 한다. 광노화 및 자연 노화에 의해 콜라겐의 기능 저하 및 함유량이 낮아지면 주름 생성, 피부 거칠기, 탄력 저하, 건조 등 피부에 악영향을 미친다. 이와 같이 콜라겐은 피부의 탄력과 보습 유지에 중요한 역할을 하며, 이는 세포 구성과 생성에 필수적인 단백질에서 기인한다고 볼 수 있다. 따라서 영양학적인 측면에서 양질의 단백질 섭취가 피부건강에 밀접한 관련이 있다고 볼 수 있다.
- [14] 먹는 화장품은 어류, 육류, 채소류 등에서 추출한 콜라겐 제품이 주류를 이루고 있다. 콜라겐이란 섬유성 단백질의 일종으로 인체의 근육, 피부, 연골, 각막, 뼈 등 골격을 형성하는 결합조직의 주요성분이다. 단백질의 일종으로 아미노산 성분인 하이드록시프롤린, 글리신, 세린은 피부의 탄력과 보습에 영향을 미친다. 이에 일부 제약회사와 화장품제조 기업은 일본이나 미국 등에서 콜라겐 원료를 들여와 제품을 출시하고 있다. 청계약품 '콜라겐 플러스 3000', 한미약품 '뉴콜라겐', 제일약품 '콜라겐 100', 씨트리 '콜라겐 1000' 등이 있는데 이들 제품은 미국이나 일본산 콜라겐 원료를 100% 혹은 99.9%를 사용하여 출시한 제품들이다. '콜라겐 골드'나 '퓨어 콜라겐 SD' 등 외국 제품도 순수한 콜라겐 원료를 사용하여 만든 제품이다. 이처럼 국내, 외국을 막론하고 콜라겐 원료 함량을 전면에 내세운 제품이 출시되었다. 문제는 콜라겐을 먹어서 인체의 콜라겐 함량을 높일 수 있는지에 관한 연구가 부족하다는 점이다.
- [15] 또한, 먹는 콜라겐 화장품의 문제점은 효능의 객관적 검증이 미흡하다는 점에 있다. 콜라겐을 먹어서 인체의 콜라겐 함량을 높일 수 있는지에 관한 연구가 부족한 실정이다. 식품의약품안전청은 콜라겐을 식품 원료로 사용할 수는 있으나 이를 먹어서 피부에 좋은 효능이 있다는 점은 과학적으로 증명이 되지 않았다는 입장을 견지하고 있다.
- [16] 최근에는 콜라겐 성분에 비타민, 베타카로틴, 석류, 대두에서 추출한 이소플라본 등의 천연식물 원료를 가미하여 기능을 강화한 제품이 출시되고 있다. 새롭 화장품의 '콜라겐크리스탈 100'은 돼지 꺾데기에서 추출한 콜라겐으로 만들었고, '제주 말 태반 콜라겐'은 말 그대로 말의 태반을 농축한 것이며, 아모레 아리따움 '저분자 피쉬콜라겐'은 어류에서 추출한 수입산 콜라겐을 원료로 사용하였다. 그 밖에도 상어 지느러미, 돼지 태반이나 꺾질, 양의 태반에서 추출한 콜라겐 제품이 있다.
- [17] 근육과 골격, 피부 등 결합조직을 튼튼하게 하려고, 선조들은 콜라겐의 보고라고 할 수 있는 동물이나 어류를 장시간 끓이거나 적당한 온도에서 삭혀서 젤라틴상태로 만들어 섭취하였다. 콜라겐을 끓이면 끈끈한 젤라틴 상태로 녹는다. 보관하는데 문제가 있어서 교로 만들어 먹었다. 교로 만들어 먹는

방법으로는 당나귀 피부껍질로 만든 아교, 녹각으로 만든 녹각교, 거북이 등껍질로 만든 귀관교, 자라 등껍질로 만든 별갑교 등이 있다. 아교, 녹각교, 귀관교, 별갑교를 만드는 당나귀껍질, 녹각, 거북이나 자라 등껍질은 구하기 쉽지 않고 가격이 비싸다는 문제로, 손쉽게 대량으로 구할 수 있는 닭발을 고아서 묵과 같은 상태로 만들어 먹었다. 그 외에도 홍어를 삭혀 먹는다면, 도가니탕 등은 동물의 콜라겐 성분을 효과적으로 섭취할 수 있게 고안한 종래 식품의 제조법이라고 할 수 있다.

[18] 이와 같은 종래 콜라겐 섭취방법은 정밀한 임상연구에 의해 검증된 효능이 결여되어있고, 피부 건강증진을 주목적으로 사용했던 처방이나 사례가 없다는 문제점을 발견하였다. 효능에 바탕한 적절한 가격의 산정이 불가능하며, 고가의 비용이 지출되어도 무엇 때문에 그와 같은 가격이 책정되는지 알 수 없다.

[19] 건국대학교 산학협력단에서 출원한 "닭 부산물 콜라겐의 추출방법" 특허기술은 닭 껍질을 산과 알칼리에 팽윤하여 추출수율을 극대화하고 중화과정을 통하여 가식이 가능한 pH 범위로 유도된 팽윤물을 다시 열수 추출하여 잡냄새와 기타 성분을 제거한 후 동결건조를 실시하여 활용이 용이한 분말상의 콜라겐을 제조하는 방법이다. 한국푸드팜 주식회사의 닭발로부터 콘드로이틴 황산을 제조하는 방법 특허는 가열추출, 원심분리, 농축하는 단계를 포함하거나 또는 닭발을 단백질분해효소로 효소가수분해를 한 후 단백질분해효소를 불활성화한 다음 원심분리를 실시하여 얻은 상층액을 농축하는 단계를 포함하여 닭발로부터 콘드로이틴 황산을 제조하는 방법 기술이다. 닭발을 이용한 영양강화 엑기스와 젤리 제조방법은 닭발과 창출, 사인 등의 소도지제를 함께 넣고 2~3일 동안 100~130°C 고온 고압 상태에서 끓여 제품을 만드는 것으로 구성되어 있다. 그 밖에 한국식품연구원에서 개발한 물고기 피부에서 초음파 추출법으로 콜라겐을 얻는 방법이 있다. 해외특허로 저온, 저분자 특허 공법으로 제조한 분자량 30,000~50,000 정도의 수입 콜라겐 원료를 사용하여 만든 제품이 있다.

[20] 상기와 같은 종래 기술로 개발한 콜라겐을 원료로 사용한 이너뷰티 제품은 사람이 섭취하였을 때, 기대한 만큼 콜라겐이 인체에 생성 될 수 없다는 것이 지금까지 밝혀진 학계의 정설이고, 식품의약품안전청의 공식견해이다. 동물에서 추출한 콜라겐의 경우 기존 공개된 발명은 강산을 사용하거나 가수분해 또는 소화를 돕는 한약제를 넣고 함께 끓이거나 발효의 과정을 거쳐 유효성분을 섭취하고자하는 수준에 머무르고 있다. 이는 복잡한 제조 공정을 거쳐야 한다는 문제점이 있으며, 동물의 조직에서 콜라겐을 분리하는 공정 중에 강산을 사용하여 유해한 산업폐기물이 다량으로 발생하는 문제점이 있다. 뿐만 아니라 먹는 콜라겐의 인체에서의 흡수와 생합성에 관한 이론적 근거가 희박하다는 점이 가장 큰 문제점이라고 할 수 있다.

[21] 이에, 본 발명자들은 강산(强酸)을 사용하지 않고 콜라겐 저분자 펩티드를 제조하는 방법을 연구하던 중, 닭발에 조개 껍데기에서 얻은

수소칼슘(탄산수소칼슘)을 활용하여, 닭발에 풍부한 콜라겐을 저분자 펩티드로 분해하는 방법을 개발하고, 상기 얻어진 콜라겐 저분자 펩티드를 다양한 기능성의 약초 성분과 혼합한 제품, 예를 들면 반려동물의 기호성과 영양성을 함께 충족시키는 제품을 개발함으로써 본 발명을 완성하였다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [22] 본 발명의 목적은 강산(强酸)을 사용하지 않고 콜라겐 저분자 펩티드를 제조하는 방법을 제공하는 것이다.
- [23] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 방법으로 제조된 콜라겐 저분자 펩티드를 활용한 제품, 예를 들면, 방부제, 향생제, 인공첨가물을 사용하지 않은 최고급 웰리티(홀리스틱 등급 이상)의 영양 간식 제품으로 식성이 까다로운 반려동물의 기호를 충족함으로써 피모, 골절, 뼈 건강에 도움을 콜라겐 저분자 펩티드의 공급과 콜라겐 생합성에 도움을 주는 약초를 배합하여 효능이 뛰어나면서도 입맛이 까다로운 허약체질 및 고령 반려견의 건강을 획기적으로 증진하며, 애완견은 물론 고양이의 까다로운 입맛을 충족하는 기호성이 뛰어난 반려동물 영양보충용 조성물을 제공하는 것이다.

과제 해결 수단

- [24] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 1) 닭발을 음용수로 세척한 후 중탕솥에 넣고 100~125°C, 1.5~2.5기압의 압력을 가하여 10~30분 동안 고압증기멸균시키는 단계; 2) 상기 멸균된 닭발을 강산이 아닌 수소칼슘을 함유한 약산으로 분해시키는 단계; 3) 상기 분해된 닭발에서 지방을 제거하고 농축하는 단계; 및 4) 상기 지방이 제거된 닭발을 혼합 유산균주를 투입하여 2~3일 동안 발효시키는 단계;를 포함하는 콜라겐 저분자 펩티드의 제조 방법을 제공한다.
- [25] 또한, 본 발명은 1) 상기 방법으로 콜라겐 저분자 펩티드를 제조하는 단계; 및 2) 상기 콜라겐 저분자 펩티드와 쥐눈이콩, 검은콩, 연자육 및 육두구를 포함하는 약초와 혼합하고 저온감압공법으로 농축하여 전탕액을 제조하는 단계;를 포함하는 콜라겐 저분자 펩티드를 이용한 반려동물 영양보충용 조성물의 제조 방법을 제공한다.
- [26] 또한, 본 발명은 1) 상기 방법으로 콜라겐 저분자 펩티드를 제조하는 단계; 2) 상기 콜라겐 저분자 펩티드와 우슬, 두충, 홍화씨, 모과, 계지 및 오가피를 포함하는 약초와 혼합하여 추출한 전탕액을 제조하는 단계; 및 3) 상기 전탕액을 톳 분말과 반죽하여 환이나 정제 분말, 젤리(고膏) 및 캡셀(연질 경질)로 이루어진 군중에서 선택된 제형을 제조하는 단계;를 포함하는 콜라겐 저분자 펩티드를 이용한 식품의 제조 방법을 제공한다.
- [27] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.
- [28] 본 발명의 특징은 콜라겐 저분자 펩티드를 제조하는 방법과 상기 콜라겐

저분자 펩티드를 활용하여 반려동물의 건강증진에 도움을 주는 천연물을 선정하여 기호성이 뛰어나고 효능이 뛰어난 반려동물 영양식품이나 뼈관절 등의 퇴행성 근골격계질환의 치료 또는 예방에 도움이 되는 식품의 제조 방법을 제공하는데 있다.

- [29] 본 발명은 1) 닭발을 음용수로 세척한 후 증탕솥에 넣고 100~125°C, 1.5~2.5기압의 압력을 가하여 10~30분 동안 고압증기멸균시키는 단계; 2) 상기 멸균된 닭발을 강산이 아닌 수소칼슘을 함유한 약산으로 분해시키는 단계; 3) 상기 분해된 닭발에서 지방을 제거하고 농축하는 단계; 및 4) 상기 지방이 제거된 닭발을 혼합 유산균주를 투입하여 2~3일 동안 발효시키는 단계;를 포함하는 콜라겐 저분자 펩티드의 제조 방법을 제공한다.
- [30] 본 발명의 콜라겐 저분자 펩티드의 제조 방법에 있어서, 상기 수소칼슘은 패각이나 산호로부터 얻어지는 것이 바람직하고, 탄산수소칼슘인 것이 보다 바람직하다.
- [31] 또한, 본 발명의 콜라겐 저분자 펩티드의 제조 방법에 있어서, 상기 혼합 유산균주는 *Bacillus Subtillus*, *Saccaromyces Cerevisiae*, *Lactobacillus Acidophillus*, *Lactobacillus Brevis* 및 *Lactobacillus Plantarum*를 포함하는 것이 바람직하다.
- [32] 또한, 본 발명은 상기 방법으로 콜라겐 저분자 펩티드를 제조하는 단계; 및 2) 상기 콜라겐 저분자 펩티드와 반려동물의 기호성을 충족하면서도 건강에 도움을 주는 쥐눈이콩, 검은콩, 연자육 및 옥두구를 포함하는 약초와 혼합하고 저온감압공법으로 농축하여 전탕액을 제조하는 단계;를 포함하는 콜라겐 저분자 펩티드를 이용한 반려동물 영양보충용 조성물의 제조 방법을 제공한다.
- [33] 본 발명의 콜라겐 저분자 펩티드를 이용한 반려동물 영양보충용 조성물의 제조 방법에 있어서, 상기 제 2)단계 후, 추가적으로 상기 전탕액에 부형제를 혼합하는 단계를 포함하는 것이 바람직하고, 이때 상기 부형제는 미강, 맥강 및 연자육을 포함하는 것이 보다 바람직하고, 아울러, 상기 부형제 혼합 후, 추가적으로 동결건조나 열 건조, 마이크로웨이브장치 건조 등의 방법에 의해 상기 조성물을 건조분말로 제조하는 것이 보다 바람직하다.
- [34] 또한, 본 발명은 1) 상기 방법으로 콜라겐 저분자 펩티드를 제조하는 단계; 2) 상기 콜라겐 저분자 펩티드와 우슬, 두충, 홍화씨, 모과, 계지 및 오가피를 포함하는 약초와 혼합하여 추출한 전탕액을 제조하는 단계; 및 3) 상기 전탕액을 톳 분말과 반죽하여 환이나 정제 분말, 젤리(고膏) 및 캡셀(연질 경질)로 이루어진 군중에서 선택된 제형을 제조하는 단계;를 포함하는 콜라겐 저분자 펩티드를 이용한 식품의 제조 방법을 제공한다.
- [35] 상기 콜라겐 저분자 펩티드를 이용하여 제조된 식품은 퇴행성 근골격계질환에 도움을 주는 조성물이다.
- [36] 또한, 본 발명의 콜라겐 저분자 펩티드를 이용한 식품의 제조 방법에 있어서, 추가적으로 상기 2) 단계의 전탕액에서 농축액을 제조하고, 상기 농축액을 톳 분말과 반죽하여 환이나 정제 분말, 젤리(고膏) 및 캡셀(연질 경질)로 이루어진

군중에서 선택된 제형을 제조하는 것이 바람직하다.

[37] 또한, 본 발명의 콜라겐 저분자 펩티드를 이용한 식품의 제조 방법에 있어서, 상기 제 2)단계 후, 추가적으로 상기 전탕액에 부형제를 혼합하는 단계를 포함하는 것이 바람직하고, 이때 상기 부형제는 맥강 미세분말을 포함하는 것이 보다 바람직하고, 아울러, 상기 부형제 혼합 후, 추가적으로 동결건조나 열 건조, 마이크로웨이브장치 건조 등의 방법에 의해 상기 조성물을 건조분말이나 젤리형태로 제조하는 것이 보다 바람직하다.

[38] 본 발명은 종래에 사용된 황산이나 염산과 같은 강산이 아닌 수소칼슘을 함유한 약산으로 닭발에서 그 효능이 입증된 저분자 콜라겐 펩티드를 제조하고, 상기 콜라겐 저분자 펩티드 등을 원료로 사용하여 반려동물의 영양 결핍 사태를 효과적으로 개선할 수 있다. 특히, 본 발명의 조성물은 종래의 식물성 단백질 위주의 기존 영양보충용 제품과는 동물성 단백질을 주원료로 사용하여 반려동물의 건강을 획기적으로 증진가능하다.

[39] 또한, 본 발명의 조성물은 퇴행성 근골격계 질환을 획기적으로 개선하고 콜라겐 공급으로 도움을 줄 수 있는 퇴행성 질환을 획기적으로 개선하는 효능이 있다.

[40] 본 발명에서 설명하는 주요 물질의 특징은 다음과 같다.

[41] 1) 콜라겐: 인체를 구성하는 총 단백질 중 25%가 콜라겐이다. 피부와 뼈 인대 근육 등 결합조직의 주성분인 콜라겐은 세 가닥의 고분자 단백질이 트러스트 구조로 단단하게 결합된 형태이다. 콜라겐은 물, 묽은 산, 묽은 알칼리에 녹지 않지만 끓이면 젤라틴 상태로 용해되며, 지금까지 밝혀진 콜라겐의 효능으로는 골다공증, 무릎관절염, 두뇌발달, 피부미용과 보습효과, 면역력 증진 및 성장발육, 동맥경화, 지혈, 시력회복 등이 알려져 있다.

[42] 콜라겐을 구성하는 아미노산으로는 프롤린, 옥시프롤린,[하이드록시프롤린] 글리신, 글루탐산 등이 있으며, 족발, 사골국물, 닭발, 돼지껍데기, 도가니탕 등과 같이 뼈, 관절, 껍질을 재료로 만든 음식에 콜라겐이 많이 함유되어 있다.

[43] 2) 닭발: 닭발은 닭을 도축하고 나오는 부산물이다. 닭발은 뼈, 관절, 연골조직, 힘줄, 근육 등으로 이루어져있어서 칼슘, 골수, 단백질, 콜라겐 기타 미량원소가 풍부하게 함유되어 있다. 닭발에 많이 함유되어 있는 콜라겐은 피부, 혈관, 뼈, 치아, 근육 등 인체를 구성하는 모든 결합조직의 주된 단백질이다. 보통 사람 체중의 16%정도가 단백질로 구성되어 있으며, 이중 약 3분의 1이 콜라겐으로 이루어져 있다. 콜라겐은 형태적으로 가늘고 긴 막대 모양을 하고 있으며 우리 몸을 형태를 지탱하는 역할을 한다. 콜라겐은 연골세포, 근섬유세포, 골세포, 피부섬유아세포 등에서 만들어진다. 피부에서 콜라겐의 구성량은 약 70%에 이르며, 진피의 경우 90%이상을 차지한다. 관절을 건강하게 하고, 피부를 탄력 있게 유지시켜주는 기능을 한다.

[44] 콜라겐은 아미노산으로 구성된 섬유상 단백질로서 장기를 감싸는 막, 연골, 치아, 머리카락, 근육, 뼈와 피부 등에 주로 존재하고 관절을 튼튼하게 한다. 닭발

뼈는 굵지 않고 연골 형태이며 연골부위에는 콘드로이틴 성분이, 껍질에는 글리신과 같은 당단백질과 콜라겐이나 엘라스틴과 같은 결합조직 단백질이 많이 들어있다. 결합조직은 조직세포 사이의 공간에 다량의 세포외 물질이 있으며, 이 물질의 종류와 배열에 따라 고유 결합조직, 연골, 뼈 혈액으로 나눌 수 있다. 고유 결합조직 중 피부의 진피(dermis)는 섬유성 단백질인 콜라겐이 산재된 형태인 소성결합조직(loose connective tissue)이며, 근육을 뼈에 연결하는 건(tendon)은 콜라겐이 규칙적 또는 비 규칙적으로 뻗뻗하게 배열된 상태인 밀집결합조직(dense connective tissue)이다. 닭발이 예전부터 퇴행성관절염에 좋은 것으로 알려져 왔고, 최근에는 피부미용과 혈압강화에 도움이 된다고 하는 것도 이러한 성분의 생리활성 작용이라 할 수 있다.

- [45] 동물의 피부를 열수로 끓여 얻어진 유도단백질이 젤라틴이다. 젤라틴은 엄밀한 의미에서 콜라겐이라고 부를 수 없다. 콜라겐을 구성하는 아미노산으로는 프롤린, 옥시프롤린, 글리신, 글루탐산 등이 있다. 골질 또한 골 조직의 세포간질을 형성하는 물질로서 콜라겐의 일종이다. 콜라겐은 20대부터 체내에서 생성이 저하되어 40대에는 절반 이하로 떨어진다. 돼지껍질이나 족발, 도가니탕 등에 콜라겐이 들어있고, 특히 닭발에 많이 함유되어 있다.

- [46] 지금까지 밝혀진 콜라겐의 효능으로는 골다공증, 무릎관절염, 두뇌발달, 피부미용과 보습효과, 면역력 증진 및 성장발육, 동맥경화, 지혈, 시력회복 등이 알려져 있다.

- [47] 닭발 100g에는 170~180Kcal 정도의 열량이 있고, 영양성분으로는 탄수화물 11%, 단백질 21%, 지방 67%가 함유되어 있다. 비타민 b1, b2, b6, c, e 등이 함유되어 있고, 기타 미량원소는 다음과 같다. 나이아신 1.20mg, 나트륨 30.00mg, 아연 0.1mg, 인 21.0mg, 지질 0.20mg, 철분 0.5mg, 칼륨 65.0mg, 칼슘 2.0mg, 콜레스테롤 5.40mg, 회분 0.20mg 등이 함유되어 있다.

발명의 효과

- [48] 상기와 같이 구성되는 본 발명은 종래의 콜라겐 저분자 펩티드의 제조시에 사용되는 황산이나 염산과 같은 강산이 아닌 수소칼슘을 사용함으로써 식품, 의약품, 화장품 등에 활용시 안전성을 높였으며, 상기 제조된 콜라겐 저분자 펩티드를 이용하여 제조된 반려동물 영양보충용 조성물은 반려동물의 기호도를 충족시키면서 육식성 반려동물의 습성과 체질을 반영한 처방식 영양제로서 피부염, 곰팡이성 피부, 근골격이 약화되어 발생하는 슬관절 및 고관절 탈구, 골절 질환 등에 광범위하게 적용할 수 있으며, 나아가 바이러스성 질환이나 병후 회복에 탁월한 도움을 줄 수 있다.

- [49] 본 발명의 반려동물 영양보충용 조성물은 반려동물의 건강증진을 위한 프리미엄 처방식 영양 제품으로 이용가능하다. 육식성 반려동물의 습성과 체질을 반영한 처방식 영양제로서 피부염, 곰팡이성 피부, 근골격이 약화되어 발생하는 슬관절 및 고관절 탈구, 골절 질환 등에 광범위하게 적용할 수 있다.

나아가 바이러스성 질환이나 병후 회복에 탁월한 도움을 줄 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [50] 도 1은 본 발명에 따른 반려동물 영양보충용 조성물의 제조 방법을 도시한 공정흐름도이다.
- [51] 도 2는 다양한 발효에서 생성된 저분자 콜라겐의 함량을 콜라겐에 존재하는 지표 성분인 하이드록시프롤린(Hydroxyproline) 함량으로 측정한 그래프이다. 이때 시료 A는 일반 발효공정 적용, 시료 B는 전래방식의 막걸리 유산균을 활용한 경우, 시료 C는 본 발명의 발효공법을 사용한 경우이다.
- [52] 도 3은 본 발명의 반려동물 영양보충용 조성물에 함유된 콜라겐 저분자 펩티드를 항노화 원료로 사용하여 피부 수분량과 탄력도를 측정한 그래프이다.
- [53] 도 4는 본 발명에서 제조한 콜라겐 저분자 펩티드의 성분과 함량을 나타낸 표이다.

발명의 실시를 위한 형태

- [54] 이하, 본 발명에 따른 바람직한 실시예를 더욱 구체적으로 제시하여 상세하게 설명하기로 한다. 그러나, 이하의 실시예는 이 기술분야에서 통상적인 지식을 가진 자에게 본 발명이 충분히 이해되도록 제공되는 것으로서 여러 가지 다른 형태로 변형될 수 있으며, 상기와 같은 실시예들에 의하여 본 발명이 한정되는 것은 아니다.
- [55] <실시예 1> 콜라겐 저분자 펩티드의 제조
- [56] 천연상태로는 인체 흡수가 불가능한 고분자 단백질 화합물인 콜라겐을 발효와 하기 공법을 개발 적용하여 저분자 펩티드로 상태로 제조하였다.
- [57]
- [58] *이를 위해 먼저, 닭발을 고압증기멸균시켰다. 구체적으로, 닭발을 시장에서 구입하여 음용수로 세척한 다음 발톱과 비늘을 제거하고 고압열수분사기로 깨끗하게 세척하였다. 세척한 닭발 10Kg을 중탕솥에 넣고 110~125°C, 1.5~2.5기압의 압력을 가하여 10~30분 동안 증기로 멸균하였다.
- [59] 상기 멸균된 닭발에서 콜라겐 저분자 펩티드를 제조하였다. 구체적으로, 상기 멸균한 닭발 10 kg과 음용수를 중탕솥에 투입하고 끓인 다음 60~99.9°C에서 압력을 가하지 않고 24~72시간 동안 중간불로 가열하여 끓였다. 이때 투입하는 음용수는 닭발의 1.2~2배 정도가 바람직하다. 보다 바람직하게는 1.5배 정도의 음용수를 넣고 끓이되 증발하면 수시로 보충하였다. 일반적으로 콜라겐을 저분자 펩티드로 만들 때 염산이나 황산을 사용하지만, 본 발명에서는 고분자 콜라겐을 끓일 때 주로 식품첨가제나, 활성산소를 제거하는 용도로만 사용되던 수소칼슘을 함께 넣고 끓였다.
- [60] 상기 수소칼슘은 패각이나 산호 등에 고열을 가해 수소를 침착시킨 시중 제품을 사용하였는데, 정확하게는 탄산수소칼슘이 대량으로 함유되어 있다. 상기 수소칼슘을 얻기 위하여, 본 실시예에서는 꼬막 껍데기를 고온으로 가열한

상태에서 수소를 결합시킨 제품을 활용하였다. 본 발명에서 적용한 수소칼슘을 사용하면 유해 산업폐기물 발생을 원천적으로 회피할 수 있고, 저분자 펩티드의 수율도 상승하였다. 수소칼슘은 산도를 조절하는 식품첨가제로 사용해왔으므로 용량의 제한은 없으나 10g 내외면 적당하고, 대략 pH 4.5 정도를 나타내었다. 농축액을 제조하는 시간에 있어서 가열하는 시간이 총 24~55시간을 충족하면 무방하다. 보다 바람직하게는 끓기 시작하면 증발로 30~48시간 가열하고, 24시간 정도면 수소칼슘이 저분자 제조 과정을 충족하였다. 증발하면 수시로 음용수를 보충 농축하며 지방을 제거하였다. 농축하는 중과 농축 후에 *Bacillus Subtilis*, *Saccaromyces Cerevisiae*, *Lactobacillus Acidophilus*, *Lactobacillus Brevis*, *Lactobacillus Plantarum* 등을 함유하는 혼합유산균 20g의 발효균주를 투입하여 2-3일 동안 발효하였다.

[61] 이와 같은 방법으로 제조한 콜라겐 저분자 펩티드는 용도에 제한이 없다.

반려동물의 영양식은 물론 콜라겐 저분자 펩티드를 원료나 제품으로 사용하는 식품, 의약품, 화장품 등의 원료로 사용할 수 있다.

[62] <비교예 1> 일반 발효 공정에 의한 콜라겐 저분자 펩티드의 제조

[63] 실시예 1의 콜라겐 저분자 펩티드의 제조시에 수소칼슘이 아닌 황산 10 g 을 사용하여 제조하였다. 아울러, 최종 발효시에 유산균이나 선옥균 등의 발효액을 넣고 발효하였다.

[64] <비교예 2> 통상의 막걸리에 의한 콜라겐 저분자 펩티드의 제조

[65] 유산균이 살아있는 생막걸리를 시중에서 구입하여 사용하였다.

[66] <비교예 3> 계축산에 의한 콜라겐 저분자 펩티드의 제조

[67] 닭발을 끓여 젤라틴으로 만든 다음 우슬, 대계, 송절, 해동피 등의 분말과 섞어 건조 분말로 제조하였다.

[68] <실시예 2> 반려동물 영양보충용 조성물의 제조 1

[69] <2-1> 콜라겐 저분자 펩티드와 약초의 혼합

[70] 상기 실시예 1에서 제조한 콜라겐 저분자 펩티드 10 kg에 쥐눈이콩 1 kg, 검은콩 1 kg, 연자육 1 kg 및 육두구 0.3 kg을 첨가하여 음용수 25L와 혼합하여 전탕액 18 L를 얻은 후, 여기에, 꿀 1ℓ를 혼합한 후 저온감압농축기를 이용하여 저온감압 공법으로 고농축 액상의 조성물 15 ℓ를 제조하였다.

[71] 상기 실시예에 쥐눈이콩, 검은콩, 연자육 등의 추출물을 얻은 다음 농축기에 넣는 과정에서 저분자 펩티드 10 ℓ와 꿀 1ℓ를 넣는 것이 바람직하며, 쥐눈이콩, 검은콩, 연자육 등의 추출물을 농축한 다음 혼합기에 추출농축액과 저분자펩티드 10 ℓ, 꿀 1 ℓ를 혼합한 다음 포장, 멸균 처리하는 것이 보다 바람직하[하; 삭제]다.

[72] 상기 약초는 개별 증상에 적합하고 반려견의 기호성과 약초의 효능에 따라 적절한 변형이 가능하다. 본 단계에서 액상의 조성물로 사용가능하다.

[73] 일반적으로 상기 약초는 인간의 복용시에는 숙지황, 백작약, 천궁, 당귀, 갈근, 민들레 등을 사용하였지만, 이러한 약초는 반려동물의 기호에는 적합하지 않다.

따라서, 본 발명자는 이들 대신에 상기와 같은 성분을 사용하였다.

- [74] 특히, 쥐눈이콩, 검은콩은 식물성 영양 호르몬이 풍부한 갈근 대신에 사용하였으며, 아울러 단백질 함량 (특히 식물성 여성호르몬 함량)이 높은 장점이 있다.

[75] **<2-2> 부형제의 혼합**

- [76] 상기 제조한 고농축 액상의 조성물에 미강, 맥강, 연자육으로 이루어진 부형제를 첨가하였다. 부형제의 량의 비율은 상기 액상 조성물 100 중량부에 부형제 100-200 중량부 정도가 적당하다. 부형제가 많으면 효능이 떨어지고 적으면 제형화 하는데 어려움이 있다. 미강, 맥강, 연자육을 부형제로 사용하면 별도의 결합제를 인공적으로 첨가하지 않아도 된다는 장점이 있다.

[77] **<2-3> 건조과립 조성물의 제조**

- [78] 상기 부형제와 혼합된 액상 조성물을 동결건조 방법이나 열풍건조로 건조과립의 조성물을 제조하였다. 동결건조기의 동결건조 조건은 일반 식품의 조건을 충족하면 되고, 열풍건조 시에는 70°C 내외(口 5°C)에서 5-10 시간 정도 건조하면 무방하다.

- [79] 일반적으로 사용하기에 적당한 조성물을 제조하기 위해 식이섬유와 생리활성이 높은 원료소재를 개발하고, 상기 특화한 제형 기술을 토대로 과립이나 환, 분말 등의 형태를 제조하였다.

[80] **<실시예 3> 반려동물 영양보충용 조성물의 제조 2**

- [81] 먼저, 상기 콜라겐 저분자 펩티드의 제조는 실시예 2과 동일하다. 다만, 콜라겐 저분자 펩티드와 약초의 혼합에서 사용한 성분의 함량이 쥐눈이콩 2 kg, 검은콩 2 kg, 연자육 2 kg 및 육두구 0.6 kg을 첨가하여 혼합한 점을 제외하고는 이외의 공정도 동일하다.

[82] **<실시예 4> 반려동물 영양보충용 조성물의 제조 3**

[83] **<4-1> 콜라겐 저분자 펩티드와 약초의 혼합**

- [84] 먼저, 상기 콜라겐 저분자 펩티드의 제조는 실시예 1과 동일하다. 다만, 콜라겐 저분자 펩티드와 약초의 혼합에서 사용한 성분의 함량이 쥐눈이콩 0.5 kg, 검은콩 0.5 kg, 연자육 0.5 kg 및 육두구 0.15 kg을 첨가하여 혼합한 점을 제외하고는 이외의 공정도 동일하다.

- [85] 상기 약초는 개별 증상에 적합하고 반려견의 기호성과 약초의 효능에 따라 적절한 변형이 가능하다. 본 단계에서 액상의 조성물로 사용가능하다.

- [86] 일반적으로 상기 약초는 인간의 복용시에는 숙지황, 백작약, 천궁, 당귀, 갈근, 민들레 등을 사용하였지만, 이러한 약초는 반려동물의 기호에는 적합하지 않다. 따라서, 본 발명자는 이들 대신에 상기와 같은 성분을 사용하였다.

- [87] 특히, 쥐눈이콩, 검은콩은 식물성 영양 호르몬이 풍부한 갈근 대신에 사용하였으며, 아울러 단백질 함량 (특히 식물성 여성호르몬 함량)이 높은 장점이 있다.

[88] **<4-2> 부형제의 혼합**

- [89] 상기 제조한 고농축 액상의 조성물에 미강, 맥강, 연자육으로 이루어진 부형제를 첨가하였다. 부형제의 량의 비율은 상기 액상 조성물 100 중량부에 부형제 100-200 중량부 정도가 적당하다. 부형제가 많으면 효능이 떨어지고 적으면 제형화 하는데 어려움이 있다. 미강, 맥강, 연자육을 부형제로 사용하면 별도의 결합제를 인공적으로 첨가하지 않아도 된다는 장점이 있다.
- [90] **<4-3> 건조과립 조성물의 제조**
- [91] 상기 부형제와 혼합된 액상 조성물을 동결건조 방법이나 열풍건조로 건조과립의 조성물을 제조하였다. 동결건조기의 동결건조 조건은 일반 식품의 조건을 충족하면 되고, 열풍건조 시에는 70°C 내외(± 5°C)에서 5-10 시간 정도 건조하면 무방하다.
- [92] 일반적으로 사용하기에 적당한 조성물을 제조하기 위해 식이섬유와 생리활성이 높은 원료소재를 개발하고, 상기 특화한 제형 기술을 토대로 과립이나 환, 분말 등의 형태를 제조하였다.
- [93] **<실시예 5> 퇴행성 근골격계 질환 식품 조성물의 제조**
- [94] **<5-1> 콜라겐 저분자 펩티드와 약초의 혼합**
- [95] 상기 실시예 1에서 제조한 콜라겐 저분자 펩티드 10 kg에 우슬 1 kg, 두충 1 kg, 모과 1 kg, 홍화씨 1 kg, 계지 1 kg, 오가피 1 kg 및 민들레 1 kg, 강활 1 kg을 첨가하여 음용수 25L와 혼합하여 전탕액 14 L를 얻은 후, 저온진공농축기를 이용하여 저온감압 공법으로 고농축 액상의 조성물 8ℓ를 제조하였다.
- [96] 이때 얻은 여액을 파우치에 담아 액상의 퇴행성근골격계 염증질환에 도움을 주는 기능이 있는 식품을 제조하였다.
- [97] **<5-2> 추출 농축액과 톳 및 맥강의 혼합**
- [98] 상기 제조과정을 통해서 얻은 고농축액과 톳 15 kg, 곱게 분말한 맥강 3kg를 혼합, 반죽한 다음 건조하여 분말로 19.5 kg을 만들었다.
- [99] 상기 실시예에 사용한 우슬, 두충, 모과, 홍화씨, 계지, 오가피 등은 근골격계질환에 도움을 주는 약초이고, 톳은 칼슘의 보고이며 체내에서 콜라겐 생합성에 도움을 주는 천연 여성호르몬 성분이 많이 함유하고 있어서 뼈 건강에 도움을 주는 식품으로 널리 알려져 왔다. 맥강은 현대인에게 필요한 식이섬유를 많이 함유하고 있는 것은 물론 점성이 높아 별도의 결합제를 사용하지 않더라도 환, 산, 정제 등으로 제형화하는데 탁월한 이점이 있다.
- [100] **<실험예 1> 콜라겐 저분자 펩티드의 함량의 측정**
- [101] 본 발명의 상기 실시예 1과 비교예 1, 2, 3의 발효에서 생성된 저분자 콜라겐의 함량을 콜라겐에 존재하는 지표 성분인 하이드록시프롤린(Hydroxyproline) 함량으로 측정하였다. 저분자 수준의 콜라겐 펩티드의 측정은 콜라겐을 구성하는 성분인 하이드록시프롤린 함량을 확인하는 방법으로 검증하였다.
- [102] 콜라겐과 젤라틴을 이루는 특이적 단백질인 하이드록시프롤린의 함량을 측정하여 콜라겐 및 젤라틴의 함량을 알아보고자 하였다. 시료를 취하여 6N의 염화수소를 가한 뒤 120°C에서 24시간동안 가수분해 시키고, 상층액을 취하여

클로라민-T 용액을 첨가한 뒤 Enrich's 알데하이드를 넣고 65°C에서 반응시켜 570nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다.

- [103] 그 결과를 도 2에 도시하였다. 시료 A는 일반 발효공정(비교예 1), 시료 B는 전래방식의 막걸리 유산균을 활용한 경우(비교예 2), 시료 C는 본 발명의 실시예 1의 발효공법을 사용한 경우이다. 구체적으로, 도 2의 결과는 시료 A는 평균값이 0.539111, 표준편차 0.008328, 시료 B는 평균값 0.383147, 표준편차 0.006864, 실시예 1(시료 C)은 평균값 0.692833, 표준편차 0.010135, 계족산은 평균값 0.303793, 표준편차 0.00595로 측정되었다.

- [104] 하이드록시프롤린은 콜라겐을 구성하는 유일한 아미노산으로 하이드록시프롤린 함량으로 콜라겐 성분 유무를 판정할 수 있다. 같은 재료와 제조조건을 사용하여 시료 A, B, C를 제조하여 하이드록시프롤린 함량을 측정하였다. 시료 C에서 하이드록시프롤린 함량이 높은 것을 확인하였다. 시중에서 닭발을 원료로 사용한 계족산 제품보다 하이드록시프롤린 함량이 2배정도 높은 것은 콜라겐 저분자 펩티드의 제조면에서 매우 우수함을 확인하였다.

- [105] 유해 산업폐기물을 발생하지 않고 닭발에서 콜라겐 저분자 펩티드를 제조하는 효율적이고 경제적이며 식품으로 사용할 수 있는 안전한 방법은 실시예 1의 시료 C의 제조공법을 적용하는 것이 가장 적절한 공법으로 사료된다.

- [106] 아울러, 상기 실시예 1에서 제조한 콜라겐 저분자 펩티드의 성분과 함량을 분석(전라북도생물산업진흥원)한 결과, 식품규격기준을 충족하고, 단백질이 지방보다 20여배 많이 함유된 고품위 단백질 원료임을 확인하였다(도 4).

[107] <실험예 2> 콜라겐 저분자 펩티드의 효능 측정

- [108] 본 발명의 실시예 1에서 제조한 콜라겐 저분자 펩티드를 항노화 제품의 원료로 사용한 결과로서, 피부 건강증진에 뛰어난 효능을 나타냄을 확인하였다(도 3).

- [109] 피부의 수분과 탄력도는 진피층과 관련이 있으며, 진피층에는 콜라겐 섬유와 엘라스틴섬유, 기질 등이 있는데 이들은 피부의 보습과 탄력상태에 매우 관련이 있다. 영양 불균형, 자외선 노출, 노화 등 원인으로 피부의 활성이 저하되거나 콜라겐 단백질 함량이 낮아짐. 진피층의 구성성분은 체구성의 중요한 역할을 하는 단백질 영양소와 밀접한 관련이 있다. 특히 체내의 단백질 증가는 피부상태의 탄력도와 모공변화에 영향을 미칠 수 있는 요인이며, 세포내 수분의 변화는 피부 수분상태에 영향을 미치는 요인이다.

- [110] 본 발명의 첨단 Bio 공법으로 제조한 콜라겐 저분자 펩티드는 단백질 함량이 풍부한 원료로 섭취 후 체내 흡수 이행율이 높았다. 콜라겐 저분자 이너뷰티 식품은 생합성에 도움을 주는 식물성 여성호르몬 성분을 많이 함유한 약초를 사용하여 갱년기 이후 중노년 여성의 콜라겐 생합성 촉진 효능이 뛰어나다.

- [111] 즉, APM100 측정결과 피부 수분량, 탄력도가 현저히 증가하고, 아울러, 통상의 관능 테스트에 의한 결과, 건조, 안색, 피부 탄력도 순으로 개선됨을 확인함으로써, 기기 측정과 주관적 평가 간에 밀접한 연관성이 있음을

확인하였다.

[112] 진피 건조중량의 80%는 콜라겐 단백질이고, 모발은 콜라겐 단백질의 일종인 케라틴으로 구성되어 있어서 본 발명의 조성물을 반려동물의 사료 등으로 섭취시키면 반려동물의 피모건강증진에 탁월한 효과를 기대할 수 있다. 즉, 본 발명의 조성물은 반려동물의 피부영양 개선과 모발의 건강증진에 기여할 수 있다.

[113] 근골격계질환에 본 발명과 같은 콜라겐 저분자 펩티드를 원료로 사용하여 제조한 한약으로 무릎관절염을 치료에 뛰어난 효능을 확인한 바 있다(논문; KJ 27을 복용한 슬관절염환자 30 례에 대한 임상적 연구, 대한동의생리학회지, 201, 2, pp. 69-75). 따라서, 반려동물의 고령화와 제한된 공간에서 사육하여 활동 위축으로 인해 발생하는 골절이나 근골격계를 구성하는 기관의 약화로 인해 발생하는 질환 치료에 도움을 주는 것은 물론 각종 질환을 예방할 수 있다.

[114] <실험예 3> 본 발명의 조성물의 시험 테스트

[115] 본 발명에서 실시예 2 내지 실시예 4에서 제조한 조성물을 시험동물에 섭취하도록 하였다.

[116] 시험동물은 반려동물 중 선호도가 높은 말티즈 종으로 선정하고, 건강상태는 FCI기준에 입각하여 수의사가 검진한 후 건강상태를 분류하였다.

[117] 기호성 테스트는 식성이 비교적 까다로운 고양이와 말티즈를 여러 마리 키우고 있는 농장이나 센터 서너 곳을 선택하여 자견, 성견, 노령견으로 나눈 다음 건강상태를 표준과 허약체로 분류함. 본 발명에서 제조한 세 종류의 시료를 만들어 2-3회 복용시켜 선호도를 조사하였다.

[118] 단계별도 나누면, 다음과 같다.

[119] 1 단계; 대상 말티즈 30여 마리 선정

[120] 2 단계; 평가 절차: 주인에게 설문작성 및 시음요령 설명 후 시음 설문지 작성.

[121] 3 단계; 설문지 작성요령: 개주인 서명

[122] 4 단계; 시음절차: 3가지 시제품을 준비한 후 개에게 먹여 기호도 관찰.

[123] 5 단계; 기호도 관찰 기록 확인

[124] 반려동물의 영양식품을 연구개발함에 있어서 첫 번째 고려해야할 사항은 기호도이다. 기호도 평가를 위해 시료 A는 원료이고 시료 B는 연자육과 백복령을 혼합한 시료이고, 시료 C는 향사평위산 과립을 혼합한 것이다. 시료 A는 80% 이상 좋아하였고, 시료 B는 70%, 시료 C는 65% 정도 결과를 얻었다.

[125] <실험예 4> 본 발명의 퇴행성 근골격계 질환에 도움을 주는 식품 조성물의 시험 테스트

[126] <4-1> 자료수집기간 및 대상자 선정

[127] 2004년부터 2013년까지 유진한의원내 무릎관절염을 주증상으로 내원하여 빈소산가미방인 KJ27을 복용한 환자 중 OA(osteoarthritis) 추적 관찰이 가능했던 30례를 대상으로 삼았다.(설문 자료 첨부)

[128] <4-2> 자료분석

- [129] 통계분석에 사용한 프로그램은 IBM SPSS Statistics 20이다. 성별과 나이, 체형, 주거형태, 무릎 골관절염 주요 증상의 심천, 가족력, 무릎 골관절염 발생원인, 치료 상태와 운동량, 직업 등의 항목을 정하여 환자의 상태를 기록하고, 분석하였다. 무릎 골관절염은 남자보다 여자가 많이 발생하므로 성별의 차에 따른 분포를 보고자 하였으며, 직업이나 운동 형태에 따라 관절염이 진행되는 양상을 살펴보고, 상기 실시예 5에서 제조한 식품 조성물(이하, KJ27이라 명명함)의 부작용과 기호성을 조사하고, 관절염 치료 기간에 따른 완치율을 고찰하였다.
- [130] KJ27을 복용한 환자의 무릎관절염을 완치한 예가 있어서 통계분석 방법을 사용하여 다음 결과를 얻었다.
- [131] 주관적 장애 정도에 따른 치료결과에 있어서 거의 활동 못함으로 응답한 5명 중 80%가 완치되었고, 활동이 힘들다고 응답한 18명 중 66.7%, 활동이 조금 힘들다고 응답한 7명 중 71.4%가 완치된 것으로 나타났다.
- [132] KJ27을 복용하기 전과 복용 후로 나누어 무릎골관절염 치료만족도를 비교하면 래원 전 치료가 매우 불만족이었던 21명 중에서 15명(71.4%)이 매우 만족하다고 응답했고, 래원 전 치료를 받지 않았던 5명은 매우 만족하다고 응답하였다.
- [133] KJ27을 복용한 기간별 무릎관절염 환자의 완치율에 있어서 복용기간이 1개월인 경우의 60.0%, 2개월 연속인 경우에는 37.5%가 완치되었고, 3개월 이상인 경우에는 모두 완치된 것으로 나타났다. 3개월 동안 복용한 환자의 완치율이 높았다.
- [134] KJ27 복용으로 인한 부작용은 나타나지 않았고, 안정성과 기호성에 있어서 대다수 환자가 매우 만족하다고 응답했다.
- [135] 이와 같이, 상기 실시예 5에서 제조한 식품 조성물을 활동이 어려운 무릎 관절염 환자에게 섭취한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.
- [136] 거의 활동 못함으로 응답한 5명 중 80% 완치, 활동이 힘들다고 응답한 18명 중 66.7% 완치, 활동이 조금 힘들다고 응답한 7명 중 71.4% 완치되었다.
- [137] 또한, 식품 조성물의 관능 테스트와 그 효과에 대하여 매우 만족하다는 응답이 70.0%였고, 약간 만족이 30.0%으로 조사 대상자 30명 모두 만족하였다.
- [138] 아울러, 복용기간이 1개월 복용환자 60.0% 완치, 2개월 복용환자 37.5% 완치, 3개월 복용환자 모두 완치되는 결과를 얻었다.
- [139] <실험예 5> 본 발명의 퇴행성 근골격계 질환에 도움을 주는 식품 조성물의 소비자 만족도 평가
- [140] 식품 조성물의 약재 구성은 콜라겐 저분자 펩티드에 창출, 오가피, 우슬, 해동피, 숙지황, 당귀, 천궁, 백작약 등을 넣어 제조한 것으로 약제만 조금 다를 뿐 퇴행성 관절질환에 도움을 주는 추출액을 제조하는 본 발명의 실시예 5의 식품 조성물의 제조과정과 실질적으로 유사하게 제조하였다. 상기 식품 조성물의 소비자 만족도 주관적 평가(설문) 결과지를 하기 표 1에 기재하였다.

[141] [표1]

분야	내용	만족도(효과)	피부 관련도
팔다리/ 관절	삭신이 쭉시고 저리거나 통증이 덜하다경미한 관절통증은 1주일 안에 호전되고,오래된 관절통증은 2주 이상 섭취하면 호전	상	-
손발	저리고 차가움	중	하
다리부종	아침에 다리 부종해소	최상	상
피로도	피로하지 않다.	상	중
다이어트	아침대신 먹으면 속이 든든하고,저녁대신 먹으면 체중 감소함,	중상	상
대변	처음은 방구가 많이 나오거나 속이 불편하지만1주 이상 복용하면 숙변이 나오며 배가 상쾌함	중상	상
피부	중성과 건성피부에 탁월한 효과주로 40대 이후 여성이 좋다고 함화장이 잘 받음	상	최상
생리	생리통 없어짐검붉은 색에서 선홍색으로 변함	상	중
부작용	간혹 속이 더부룩함 호소	상	

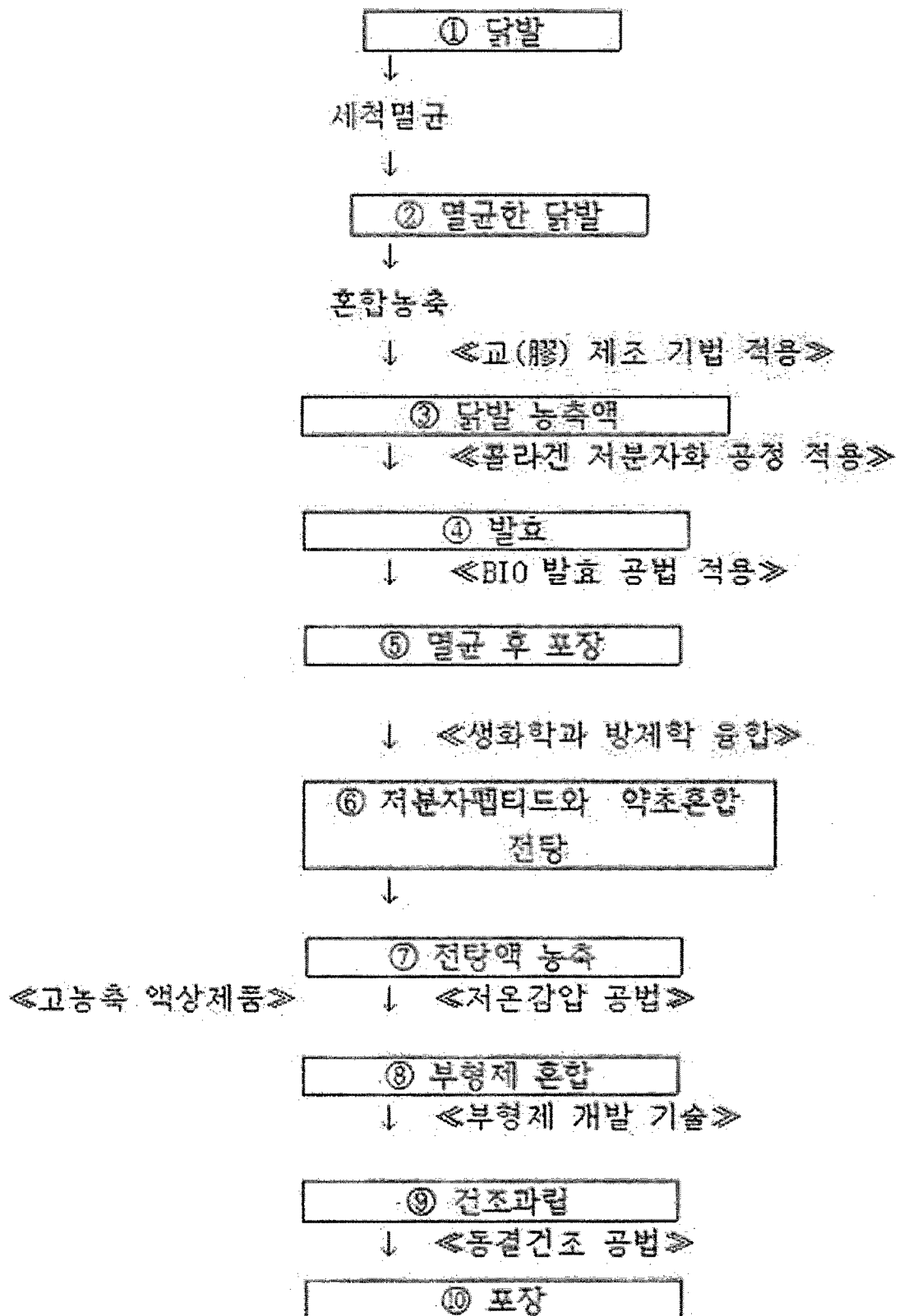
[142] 이상, 본 발명의 바람직한 실시예를 들어 상세하게 설명하였으나, 본 발명은 상기 실시예에 한정되는 것은 아니며, 본 발명의 기술적 사상의 범위내에서 당 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의하여 여러 가지 변형이 가능하다.

청구범위

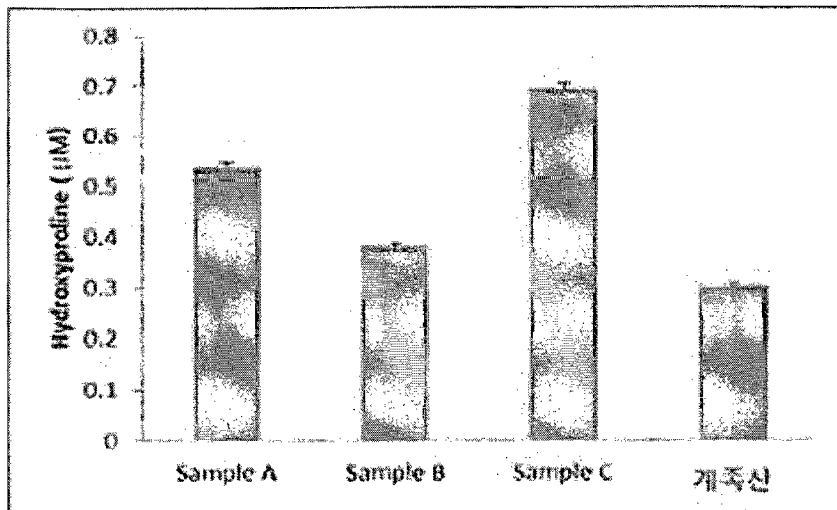
- [청구항 1] 1) 닭발을 음용수로 세척한 후 중탕수에 넣고 100~125°C, 1.5~2.5기압의 압력을 가하여 10~30분 동안 고압증기멸균시키는 단계;
2) 상기 멸균된 닭발을 강산이 아닌 수소칼슘을 함유한 약산으로 분해시키는 단계;
3) 상기 분해된 닭발에서 지방을 제거하고 농축하는 단계; 및
4) 상기 지방이 제거된 닭발을 혼합 유산균주를 투입하여 2~3일 동안 발효시키는 단계;를 포함하는 콜라겐 저분자 펩티드의 제조 방법.
- [청구항 2] 제 1항에 있어서, 상기 수소칼슘은 패각이나 산호로부터 얻어지는 것을 특징으로 하는 콜라겐 저분자 펩티드의 제조 방법.
- [청구항 3] 제 2항에 있어서, 상기 수소칼슘은 탄산수소칼슘인 것을 특징으로 하는 콜라겐 저분자 펩티드의 제조 방법.
- [청구항 4] 제 1항에 있어서, 상기 혼합 유산균주는 *Bacillus Subtilis*, *Saccaromyces Cerevisiae*, *Lactobacillus Acidophilus*, *Lactobacillus Brevis* 및 *Lactobacillus Plantarum*를 포함하는 것을 특징으로 하는 콜라겐 저분자 펩티드의 제조 방법.
- [청구항 5] 1) 제 1항 내지 제 4항 중 어느 한 항의 방법으로 콜라겐 저분자 펩티드를 제조하는 단계; 및
2) 상기 콜라겐 저분자 펩티드와 쥐눈이콩, 검은콩, 연자육 및 육두구를 포함하는 약초와 혼합하고 저온감압공법으로 농축하여 전탕액을 제조하는 단계;를 포함하는 콜라겐 저분자 펩티드를 이용한 반려동물 영양보충용 조성물의 제조 방법.
- [청구항 6] 제 5항에 있어서, 상기 제 2)단계 후, 추가적으로 상기 전탕액에 부형제를 혼합하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 반려동물 영양보충용 조성물의 제조 방법.
- [청구항 7] 제 6항에 있어서, 상기 부형제는 미강, 맥강 및 연자육을 포함하는 것을 특징으로 하는 반려동물 영양보충용 조성물의 제조 방법.
- [청구항 8] 제 6항에 있어서, 상기 부형제 혼합 후, 추가적으로 동결건조나 열 건조에 의해 상기 조성물을 건조분말로 제조하는 것을 특징으로 하는 반려동물 영양보충용 조성물의 제조 방법.
- [청구항 9] 1) 제 1항 내지 제 4항 중 어느 한 항의 방법으로 콜라겐 저분자 펩티드를 제조하는 단계;
2) 상기 콜라겐 저분자 펩티드와 우슬, 두충, 홍화씨, 모과, 계지 및 오가피를 포함하는 약초와 혼합하여 추출한 전탕액을 제조하는 단계; 및
3) 상기 전탕액을 톱 분말과 반죽하여 환이나 정제 분말, 젤리(고膏) 및 캡슐(연질 경질)로 이루어진 군중에서 선택된 제형을 제조하는 단계;를 포함하는 콜라겐 저분자 펩티드를 이용한 식품의 제조 방법.

- [청구항 10] 제 9항에 있어서, 추가적으로 상기 2) 단계의 전탕액에서 농축액을 제조하고, 상기 농축액을 톱 분말과 반죽하여 환이나 정제 분말, 젤리(고膏) 및 캡셀(연질 경질)로 이루어진 군중에서 선택된 제형을 제조하는 것을 특징으로 하는 콜라겐 저분자 펩티드를 이용한 식품의 제조 방법.

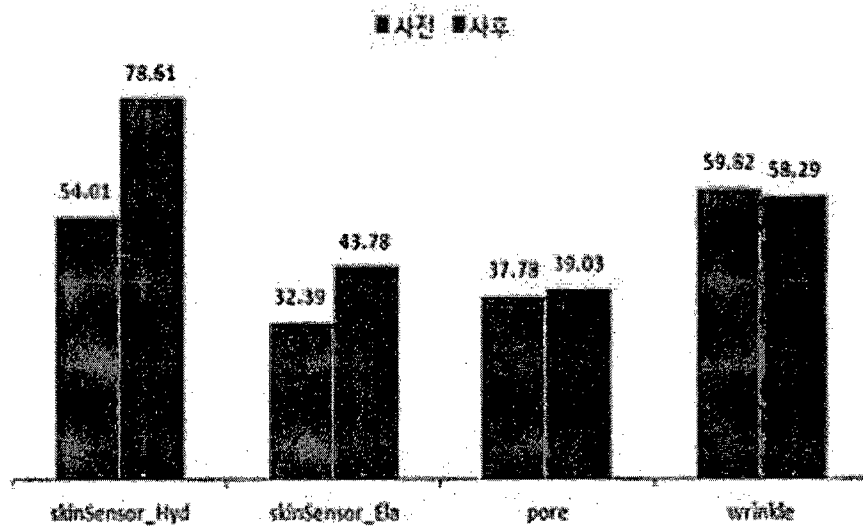
[도1]



[도2]



[도3]



[도4]



수신자 : 원광대학교 신화학력단

(경 유)

제 목 : 일반검사결과 성적서 통보

접수일자	2015년 04월 01일						
의뢰목적	내부참고		분석항목		아래와 같음		
의뢰인	업체명	원광대학교 산학협력단					
	주 소	전북 익산시 익산대로 501(신용동 344-2)					
접수번호	시험명	분석항목		분석결과		비 고	
15-209	제품교	수 분		91.48	g/100g	±	0.00
15-210		회 분		1.03	g/100g	±	0.03
15-211		조 자 방		0.21	g/100g	±	0.03
15-212		조단백질		6.25	g/100g	±	0.04
15-213		pH		5.01		±	0.01
15-214		벤조피렌		0.00	µg/kg		
15-215		납		0.028	mg/kg	±	0.00
15-216		카드름		불검출			

2015년 04월 14일

전라북도생물산업진흥원장



※ 이 성적서는 제출한 검체의 상기 분석항목에 한하며, 의뢰목적 이외의 상품안전 및 상업적 용도에 사용할 수 없음

주임연구원 한민준

신임연구원

신입혁신단장 대리자

서형 식위(65424-113)

(2015. 04. 14)

접수

우 561-360 전북 전주서 덕진구 원광동길 111-18 / http://www.jib.co.kr

전화 033-210-6557

전송 033-210-6559

E-mail/ h1j782@jib.co.kr

/ 공자