

셰이빙 스크랩으로부터 콜라겐 펩타이드계 공중합체 합성과 특성

박민석^{*,**,†} · 신수범^{*} · 김호수^{*} · 김민수^{**} · 김하선^{**} · 장재혁^{**} · 이진규^{***} · 이동국^{**,†}

*한국신발피혁연구원 피혁연구센터, **서울과학기술대학교 정밀화학과 & 의공학-바이오소재융합협동과정,
***천일페인트(주) 연구개발부
(2022년 10월 12일 접수, 2022년 10월 22일 수정, 2022년 10월 28일 채택)

Synthesis and Characterization of Collagen Peptide Based Copolymer from Shaving Scrap

Min Seok Park^{*,**,†}, Soo Beom Shin^{*}, Ho Soo Kim^{*}, Min Soo Kim^{**}, Ha Sun Kim^{**},
Jae Hyeok Jang^{**}, Jin Kye Lee^{***} and Dong Kuk Lee^{**,†}

^{*}Leather Research Center, Korea Institute of Footwear and Leather, Dongducheon 11303, Republic of Korea
^{**}Department of Fine Chemistry and Convergence Program of Biomedical Engineering and Biomaterials,
Seoul National University of Science and Technology, Seoul 01811, Republic of Korea
^{***}Research and Development Center, Chunil Paint Co., Ltd, Yangju 11449, Republic of Korea
(Received October 12, 2022; Revised October 22, 2022; Accepted October 28, 2022)

초 록

피혁 산업은 매년 여러 유형의 유해한 피혁 폐기물을 발생시킨다. 그중에서, 셰이빙 스크랩은 크롬이 함유되어 있어 재활용하기 어렵다. 최근에 셰이빙 스크랩을 이용한 흡착제, 충전제 및 가금류 사료와 같은 다양한 부가가치 제품 생산에 활용될 수 있는 많은 연구 결과들이 발표되었다. 본 연구에서는 셰이빙 스크랩으로부터 콜라겐 펩타이드를 추출하고, 이들의 물성을 개선하여 새로운 소재로 사용될 수 있는 방법을 연구하였다. 먼저, 수산화나트륨을 이용하여 셰이빙 스크랩에 포함된 크롬을 제거하였다. 그리고 가수분해물을 제조하여 농축 및 저온 결정화를 통해 정제하였다. 정제된 콜라겐 펩타이드 농축물을 스프레이 드라이어를 이용하여 분말로 제조하였다. 추출 및 정제된 콜라겐 펩타이드와 methacrylic anhydride (MAA)를 반응시켜 이중결합을 도입하였으며, ¹H 핵자기공명분광법으로 확인하였다. 다음으로, 개질화 콜라겐 펩타이드에 2-ethylhexyl acrylate (2-EHA)와 레독스 중합하여 공중합체를 만들었으며, 적외선 분광분석으로 그래프트 여부를 정성적으로 확인하였다. 결론적으로, 본 연구를 통하여 피혁 폐기물인 셰이빙 스크랩으로부터 콜라겐 펩타이드를 추출한 후 일정한 처리를 통하여 새로운 친환경 재료로 전환할 수 있음을 확인하였다.

Abstract

The leather industry generates a large amount of hazardous leather waste of various types every year. Among them, shaving scrap is difficult to recycle because it contains chromium ions. Many studies in recent years have shown that shaving scraps can be processed into various types of valuable products, such as adsorbent, filler, and poultry feed. In this study, collagen peptides were extracted from shaving scraps and structurally modified to be developed as new materials with improved physicochemical properties. First, the chromium ions contained in the shaving scraps were removed using a sodium hydroxide solution, and purified through concentration and low-temperature crystallization. The purified collagen peptide was used to prepare the powder using a spray dryer. The extracted collagen peptides were structurally modified by introducing double bonds by reacting with methacrylic anhydride (MAA), and the product was confirmed by ¹H NMR spectroscopy. Next, a copolymer was prepared by redox polymerization of the modified collagen peptide (MCP) and 2-ethylhexyl acrylate (2-EHA). The structure of the copolymer was qualitatively confirmed by FT-IR. In conclusion, this study confirmed that collagen peptides can be extracted from shaving scrap and converted into new eco-friendly materials through certain treatments.

Keywords: Collagen peptide, Copolymer, Chromium ion, Redox polymerization, Shaving scrap

1. 서 론

동물 원피로부터 얻어지는 피혁은 천연물 소재로서 자동차 시트, 가방 및 신발 제조에 널리 활용되고 있다. 피혁의 주성분인 콜라겐은 섬유질 단백질로서 분자량이 약 30만 정도인 3중 나선 구조의 천연 고분자 물질이다. 고분자 콜라겐은 화학 및 생물학적 방법의 분해공정을 거쳐서 분자량이 낮은 콜라겐 펩타이드로 제조할 수 있다[1-2]. 콜라겐 펩타이드는 생체 적합성 및 접착성을 가지고 있으며, 필름에

† Corresponding Author: Min Seok Park: Korea Institute of Footwear and Leather Research Center, Dongducheon 11303, Republic of Korea;
Dong Kuk Lee: Seoul National University of Science and Technology, Department of Fine Chemistry and Convergence Program of Biomedical Engineering and Biomaterials, Seoul 01811, Republic of Korea
Tel: Min Seok Park: +82-31-865-9701; Dong Kuk Lee: +82-2-970-6692
e-mail: Min Seok Park: smpark@kiflt.re.kr; Dong Kuk Lee: dongkuk@seoultech.ac.kr

서 마이크로캡슐에 이르기까지 다양한 산업 응용 분야에 적합하다[3]. 피혁 제조에 사용되는 원피는 복잡한 공정을 거치게 되며, 탄닝 공정에서 사용되는 황산크롬(chromium(III) sulphate)은 콜라겐과 다양한 상호 작용으로 콜라겐 분자들을 가교시키고, 열적 안정성을 제고하여 피혁의 물리화학적 성질을 향상 시킨다[4]. 따라서, 완성된 피혁은 수증기 투과성, 인열 저항 및 열 안정성을 가지는 우수한 소재로서 특성을 갖게 된다. 하지만, 피혁 제조 과정에서 크롬을 함유하는 많은 양의 폐수와 다량의 고품 폐기물이 발생된다[5-8]. 특히, 피혁 제조과정 중 세이빙, 트리밍 및 버핑 공정에서 발생하는 크롬을 포함하는 피혁 스크랩이 전체 고품 폐기물의 40~50%를 차지하는 것으로 보고되고 있다[9-10]. 이들 피혁 스크랩에는 콜라겐이 90% 이상 포함되어 있지만, 유해물질인 크롬이 약 3~6% 포함되어 있다[11-12]. 이러한 유형의 폐기물이 매립지에 버려짐으로써 토양을 오염시킬 뿐만 아니라 소각을 통해 처리될 경우 3가 크롬 이온(Cr^{3+})이 6가 크롬 이온(Cr^{6+})으로 전환되기 때문에 자연환경을 크게 훼손하는 오염 물질을 발생시키게 된다[13-15]. 따라서, 버려지는 크롬 피혁 스크랩을 유용하게 재활용할 수 있는 방법을 개발하여 유용한 재료로 변환하는 것은 환경오염 방지뿐만 아니라 바이오매스를 재활용하는 면에서도 중요하다. 다행스럽게도, 이들 물질의 재활용을 위한 다양한 연구들이 진행되고 있으며, 최근 연구 결과에서 크롬 피혁 스크랩에서 얻은 콜라겐 펩타이드 가수분해물이 충전제, 가급류 사료 및 산업용 젤라틴으로 사용될 수 있음을 보여 주었다[16-17]. 또한, 천연물 생체 고분자인 산화옥수수 전분, 베타-시클로덱스트린 및 카르복시메틸 셀룰로오스와 가교한 후 혼합하여 바이오매스 원료 및 농작물의 멀칭 필름, 먼지 억제제 등으로 사용 가능성도 보고되었다[18-20]. 본 연구에서는 피혁 제조공정에서 발생하는 세이빙 스크랩 폐기물로부터 콜라겐 펩타이드를 추출하고, 이를 활용하여 친환경적인 새로운 소재로 전환하기 위하여 다음과 같은 연구를 진행하였다. (1) 세이빙 스크랩으로부터 크롬이 제거된 콜라겐 펩타이드를 추출하고 농축 및 저온 결정화를 통해 정제된 콜라겐 펩타이드 분말을 제조하였다. (2) 정제된 콜라겐 분말을 methacrylic anhydride (MAA)와 반응시켜 이중결합을 도입하였다. (3) 이중결합이 도입된 콜라겐을 2-ethylhexyl acrylate (2-EHA)와 레독스 중합 반응을 진행시켜 공중합체를 만들었으며, 새로운 소재로서 이들의 특성을 알아보았다.

2. 실험

2.1. 시약 및 재료

본 연구에서는 경기도 동두천시 피혁산업 단지 내에 있는 G사의 피혁 제조과정 중 세이빙 공정에서 발생하는 크롬 피혁 폐기물을 수세(washing) 없이 직접 사용하였으며, 실험에 사용한 모든 시약은 Sigma-Aldrich Co., Ltd.로부터 구매하여 사용하였다. 콜라겐 펩타이드 제조를 위해 알카리 가수분해제로 NaOH, 중화제는 H_2SO_4 를 사용하였다. 이중결합 도입을 위한 그래프팅제로 methacrylic anhydride (MAA), 완충용액 제조는 KH_2PO_4 , K_2HPO_4 를 사용하였다. 이중결합 도입 콜라겐 펩타이드와 아크릴 단량체와의 레독스 중합을 위해 아크릴 단량체로 2-ethylhexyl acrylate (2-EHA), 반응개시제는 ammonium persulfate (APS), 환원제는 sodium bisulphite (SBS), 유화제는 sodium lauryl sulfate (SLS)를 사용하였다. 콜라겐 펩타이드와 아크릴 단량체와의 중합 반응이 끝난 후 중화제로는 triethanolamine (TEA)을 사용하였다.

2.2. 세이빙 스크랩을 이용한 콜라겐 펩타이드 분말 제조

본 연구에서는 콜라겐 펩타이드 분말을 제조하기 위해 세이빙 스크랩에 농도별 NaOH 용액을 세이빙 스크랩 대비 2.5배 투입하여 가수분해반응을 하였다. 우선 반응기에 농도별 NaOH 용액을 넣고 질소 분위기하에서 100 rpm으로 교반하면서, 반응온도인 50~80 °C로 승온시킨 다음 세이빙 스크랩을 2시간 동안 4번에 걸쳐 단계적으로 투입한 후 4시간 동안 반응시켰다. 반응 후 필터 페이퍼를 이용하여 불용화된 크롬을 제거한 후 콜라겐 펩타이드를 추출하였다. 제조된 가수분해물은 0.5 M H_2SO_4 을 이용하여 중화한 후 고품분 함량 50% 이상 농축한 후 저온 냉동고 하에 10 °C에서 24시간 방치하였다. 필터 페이퍼를 사용하여 저온 결정을 석출한 후 정제된 콜라겐 펩타이드를 얻고 분말 건조기(동진, DJSJ-1100)를 사용하여 분말 건조시 내부온도 190 °C, 배기온도 100 °C, 6,000~7,000 rpm 조건으로 분말화하였다.

2.3. 콜라겐 펩타이드에 이중결합 도입 반응

콜라겐 펩타이드 분말과 KH_2PO_4 , K_2HPO_4 를 사용하여 제조된 0.1 M potassium phosphate 버퍼 용액을 1,000 mL 반응기에 투입한 후 50 °C로 유지시켜 완전히 용해한다[20-21]. MAA를 2시간 동안 500 rpm에서 반회분 방식으로 연속적으로 투입시키면서 3시간 동안 반응을 시켰다. 본 연구의 콜라겐 펩타이드의 이중결합 도입 반응에서는 MAA의 함량을 콜라겐 펩타이드 분말 대비 8.3~15.0 wt% 변화시키면서 실험하였다.

2.4. 레독스 중합을 통해 콜라겐 펩타이드-아크릴 공중합체 합성

이중결합이 도입된 개질화 콜라겐 펩타이드(modified collagen peptide, MCP)를 1,000 mL 반응기에 투입 후 50 °C로 유지시킨 채 단량체 2-EHA를 유화제 SLS 및 물과 혼합한 pre-emulsion을 개시제, 환원제 함께 3시간 동안 반회분 방식으로 투입 시키면서 중합하고, 이어 3시간 동안 반응을 시켰다. MCP와 2-EHA의 비율은 1 : 3, MCP와 2-EHA 대비 개시제와 환원제는 2.4 wt%로 고정하고 SLS는 1.7~3.2 wt% 변화시키면서 실험하였다.

2.5. 콜라겐 펩타이드 추출 및 전환율 측정

추출된 콜라겐 펩타이드 및 콜라겐 펩타이드-아크릴 공중합체를 일정한 체취한 후 중화시켜(pH 7로 조절) 중합을 정지시킨 후, 강제 순환오븐에서 70 °C로 24시간 건조시켰다. 건조 전후의 시료의 무게를 측정하여 추출율 및 전환율을 계산하였다.

$$\text{Extraction and Conversion}(\%) = \frac{W_d}{W_i \times (TSC)} \times 100 \quad (1)$$

여기서, W_i 는 채취된 시료 무게, W_d 는 건조 후 시료의 무게, TSC는 이론적인 고품분 함량을 나타낸다.

2.6. 콜라겐 펩타이드 분자량 측정

콜라겐 펩타이드를 24시간 동안 강제순환오븐에서 50 °C로 건조시킨 다음 진공오븐에서 50 °C로 6시간 동안 감압 건조하였다. 감압 건조한 시료를 겔크로마토그래피(GPC: Tosoh, HLC-8320)를 이용하여 분자량을 측정하였다. TSKgel guard PW, TSKgel GMPW (2개), TSKgel G2500PW (7.8 × 300 mm)의 4개 칼럼을 연결하여 사용하였으며, 주입량 100 μ L, 용매인 0.1 M $NaNO_3$ 의 유속을 40 °C에서 1.0 mL/min, 표준물질은 PEG/PEO을 이용해서 검량했다.

2.7. 콜라겐 펩타이드에 포함된 아미노산 함량 분석

콜라겐 펩타이드 분말을 24시간 동안 강제순환오븐에서 50 °C로 건조시킨 다음 진공오븐에서 50 °C로 6시간 동안 감압 건조하였다. 감압 건조한 시료를 아미노산 분석기(Hitachi, L-8900)를 이용하여 구성 아미노산 16가지(Asp, Thr, Ser, Glu, Gly, Ala, Val, Met, Ile, Leu, Tyr, Phe, Lys, His, Arg, Pro)에 대한 함량을 측정하였다. 시험용액의 제조는 검체 일정량에 0.05 % (w/v) 2-mercaptoethanol (C₂H₆SO)을 함유한 6 N 염산을 약 10 mL를 가한 다음 드라이아이스로 동결한 후 탈기장치에 장착하여, 용해, 동결을 반복하여 충분히 탈기한다. 봉관하여 정온가열로 110 ± 1 °C, 22-24시간 가수분해한 후 봉관을 절단하는 즉시 감압하여 40 °C에서 농축 건조를 반복을 통해 염산을 최대한 제거한 후 0.2 N 구연산나트륨 완충액(pH 2.2)을 가하여 시험용액을 제조한다. Ion exchange resin (60 mm × 4.6 mm Na type)의 칼럼을 사용했으며, 시험용액 주입량 10 µL, 135 °C에서 유속 0.4 mL/min으로 분석하였다. Aglient technologies에서 제공된 아미노산 표준물질을 사용하여 검량했다.

2.8. 주사전자현미경-에너지분산형 분광분석

주사전자현미경-에너지분산형분광(SEM-EDS: Hitachi, S-3500N) 분석은 시료 표면에 15~30 kV로 백금코팅을 200초 동안 진행한 후 콜라겐 펩타이드 분말의 크기 및 분포를 관찰하였고 콜라겐 펩타이드 분말 및 셰이빙 스크랩의 원소분석을 하였다.

2.9. ¹H 핵자기공명 분석

¹H 핵자기공명(¹H NMR) 분석은 700 MHz NMR spectrometer (Agilent, DD2 700)에서 ¹H/¹⁵N-³¹P 5 mm PFG OneNMR Probe를 사용하여 수행하였으며, 699.88 MHz를 ¹H의 공명주파수로 사용하였다. 콜라겐 펩타이드 분말과 감압 건조한 다음 아세톤을 용매로 추출하여 미반응된 MAA를 제거한 MCP에 D₂O 용매에 녹여 시료를 제작 후, 액체 ¹H NMR을 측정하였으며, 모든 스펙트럼은 11.1 kHz의 spectral width, 32768개의 complex point의 조건에 대해 5.15 µs의 pulse width(90° pulse)와 1초의 recycle delay로 64회 반복 측정되었다. 실온(25 °C)에서 진행하였으며, 측정된 FID는 MestReNova software로 처리하였다.

2.10. 평균 입자크기 및 분포측정

제조된 콜라겐 펩타이드-아크릴 공중합체 입자크기 및 분포는 입자크기 분석기(Malvern, Model Zetasizer 3000HS)를 이용하여 측정하였다. 측정 시 샘플의 희석농도는 측정수 비율(count rate)을 100 kcps로 맞춘 후, Z-average diameter를 세 번 측정하여 가운데 값을 취하였다.

2.11. 적외선 분광분석

적외선 분광분석기(FT-IR: Bomen, Model MB104)를 이용해 시료를 24시간 동안 강제순환오븐에서 50 °C로 건조시킨 다음 진공오븐에서 50 °C로 6시간 동안 감압 건조하였다. 감압 건조된 시료를 아세톤 용매로 추출하여 공중합 되지 않은 poly(2-EHA)를 제거한 후 콜라겐 펩타이드-아크릴 공중합체의 제조 확인을 정성적으로 확인하였다[21].

2.12. 열분석

이중결합이 도입된 콜라겐 펩타이드와 2-EHA 공중합체의 열 안정성을 확인하기 위해 시차주사열량계(TA Instruments, Model Q10)를 이용하여 시료를 24시간 동안 강제순환오븐에서 50 °C로 건조시킨 다음 진공오븐에서 50 °C로 6시간 동안 감압 건조한 상태에서 상온~200

Table 1. Basic Components of Shaving Scrap

Components	Contents (wt%)	Method
Crude protein	40~42	Kjeldahl
Moisture	58~60	Karl fischer
Chromium	2.5~3.0	EPA 3050B
Oil	0.5~1.0	KS M 6882
Others(Minerals)	0.4~0.8	SEM-EDS

°C의 온도 범위에서 질소 분위기 하에 10 °C/min로 승온하면서 열분석을 행하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 셰이빙 스크랩의 조성

동두천 피혁공단에 입주하고 있는 G사에서 나오는 피혁 크롬 스크랩은 셰이빙 스크랩, 버핑 스크랩, 트리밍 스크랩으로 발생되며, 본 연구에서는 크롬과 콜라겐을 가교시키는 탄닌공정(Tanning process) 이후 용도별 피혁원단을 생산하기 위한 두께 조정공정(Shaving process)에서 발생하는 셰이빙 스크랩(Shaving scrap)을 이용하였다. Table 1은 셰이빙 스크랩의 기본 구성성분을 나타내었으며, 분석결과 수분함량을 제외하고는 양질의 단백질이 주요성분임을 알 수 있었다. SEM-EDS를 이용한 무기물 구성성분을 분석한 결과로 크롬 81.0 wt%, 나트륨 10.0 wt%, 황 5.0 wt%, 마그네슘 1.0 wt% 등의 조성을 확인할 수 있었다. 피혁 제조공정에서 동물성 원피를 광물성으로 전환하기 위해 크롬 및 염류를 사용한다. 특히, 크롬은 콜라겐과 가교결합을 통해 피혁의 열안정성과 물성을 증진시켜준다[4], 소각 시 3가 크롬(Cr³⁺)이 인체에 유해한 6가 크롬(Cr⁶⁺)으로 변환되어 환경오염을 유발시킨다[5-8]. 따라서 셰이빙 스크랩을 재활용하기 위해서는 콜라겐 펩타이드를 추출하기 위한 가수분해 공정 시 중금속인 크롬 제거가 반드시 필요하다.

3.2. 셰이빙 스크랩으로부터 크롬 제거와 콜라겐 펩타이드 추출

알칼리 용액을 사용하여 콜라겐 펩타이드를 추출할 경우 분자량 조절이 가능하며, 또한 불용화된 크롬[Cr(OH)₃]을 쉽게 제거할 수 있다. 따라서, 본 연구에서 수산화나트륨 농도 및 반응 온도 변화에 따른 콜라겐 추출 실험을 진행하였다[22-24]. 우선, 수산화나트륨의 농도 변화에 따른 콜라겐 펩타이드 추출실험으로부터 0.6 M 이상 농도로 투입될 경우 노란색의 투명한 상층액과 점도가 있는 슬러지 형태의 불용화된 크롬이 하층액으로 분리되었으며, 이어서 필터 페이퍼를 이용하여 침전된 크롬을 쉽게 분리함으로써 콜라겐을 추출할 수 있었다. Figure 1에서는 NaOH 몰농도(M)에 따른 콜라겐 펩타이드 추출율 및 분자량을 나타내었다. NaOH 몰농도가 증가할수록 높은 콜라겐 펩타이드 추출율 및 분자량이 감소하는 것을 확인할 수 있었으며, 최대 중량평균분자량(weight average molecular weight, Mw) 3,000, 최소 Mw 1,290, 추출율 80~94%, 분산도[polydispersity index, PDI (Mw/Mn)] 3.1~4.9의 분포도를 나타내었다. 수산화나트륨의 농도를 1.0 M로 고정한 상태에서 반응온도를 50~80 °C 범위에서 콜라겐 펩타이드 추출 실험을 진행한 결과를 Figure 2에 나타내었다. 반응온도가 50 °C 이상에서 원활한 추출이 진행되었고 온도가 높아질수록 PDI 및 Mw가 낮아지는 결과를 확인할 수 있었으며, 최대 Mw 3,660, 최소 Mw 1,290, 추출율 76~94%, PDI 3.6~4.4의 분포도를 나타내었다.

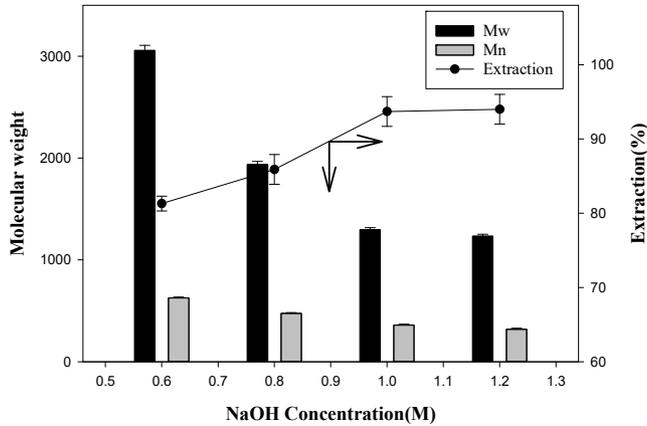


Figure 1. Effect of NaOH concentration on hydrolysis reaction. The shaving scrap was injected 4 times for 2 h to control the reaction conditions such as the solubility and volume of the mixtures. Reaction temperature and time were 80 °C and 4 h, respectively. The sample was stirred at the rate of 100 rpm. (see the text for details)

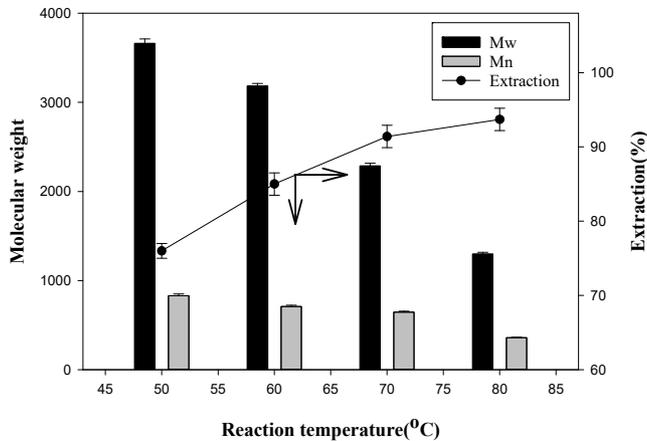


Figure 2. Effect of reaction temperature on hydrolysis reaction. Shaving scrap was injected 4 times for 2 h to control the reaction conditions such as the solubility and volume of the mixtures. 1.0 M NaOH solution was used and reaction time was 4 h. The sample was stirred at the rate of 100 rpm. (see the text for details)

3.3. 콜라겐 펩타이드 분말 제조

1.0 M NaOH 용액 및 반응 온도 80 °C에서 93 wt% 이상 추출된 콜라겐 펩타이드를 중화한 후 고형분이 50 wt% 이상 될 때까지 농축하였다. 농축된 콜라겐 펩타이드를 하루 동안 저온 냉동고(10 °C) 방치한 다음 결정화된 황산나트륨을 제거하여 정제된 콜라겐 펩타이드 농축물을 제조하였다. 백색 점토나 활성탄을 이용한 정제 방법이 알려져 있으나[19,25], 저온 결정 석출 방법은 공정이 간단하고 기타 불순물 등이 포화 용액에서 황산나트륨과 같이 침강되면서 제거되기 때문에 좀 더 간단한 방법이다. 제조된 정제 콜라겐 펩타이드 농축물은 분말 건조기를 이용하여 콜라겐 펩타이드 분말로 제조할 수 있었다. 제조된 콜라겐 펩타이드 분말을 SEM-EDS를 이용하여 분석하였으며, 콜라겐 펩타이드 분말의 형태는 직경 1~50 μm의 구슬 형태로 관찰되었다(Figure 3). 원소분석에서는 크롬 함량은 검출되지 않았으며, 탄소(C) 45.4 wt%, 산소(O) 32.9 wt%, 질소(N) 15.4 wt%, 나트륨(Na) 4.0 wt%로 확인되었다. 또한, 콜라겐 펩타이드 분자량 측정결과에서는

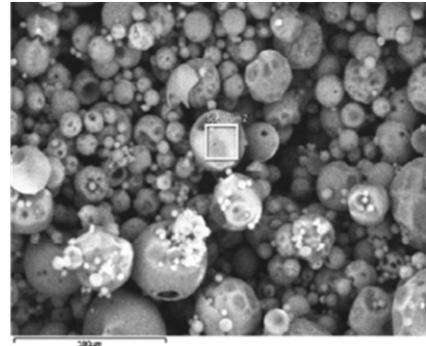


Figure 3. SEM micrograph of collagen peptide powder.

Table 2. Molecular Weight of Collagen Peptide Powder

Types of molecular weight	Molecular weights
Number average molecular weight(Mn)	677
Weight average molecular weight(Mw)	1,019
Z average molecular weight(Mz)	1,561
Polydispersity index(PDI, Mw/Mn)	1.50

Table 3. Types and Relative Amounts of Amino Acids Present in Collagen Peptide Powder

Amino acid	Amounts(mg/g)
Glycine(C ₂ H ₅ NO ₂)	183.36
Proline(C ₅ H ₉ NO ₂)	101.23
Glutamate(C ₅ H ₉ NO ₄)	79.29
Alanine(C ₃ H ₇ NO ₂)	64.35
Asparagine(C ₄ H ₈ N ₂ O ₃)	42.09
Lysine(C ₆ H ₁₄ N ₂ O ₂)	25.12
Leucine(C ₆ H ₁₃ NO ₂)	22.16
Phenylalanine(C ₉ H ₁₁ NO ₂)	14.97
Serine(C ₃ H ₇ NO ₃)	11.13
Isoleucine(C ₆ H ₁₃ NO ₂)	6.55
Valine(C ₅ H ₁₁ NO ₂)	6.39
Methionine(C ₅ H ₁₁ NO ₂ S)	6.02
Histidine(C ₆ H ₉ N ₃ O ₂)	4.39
Threonine(C ₄ H ₉ NO ₃)	2.66
Arginine(C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂)	2.61
Tyrosine(C ₉ H ₁₁ NO ₃)	2.00

Mw 1,019, Mn 677, PDI (Mw/Mn) 1.50으로 측정되어 결정 석출로 불순물 제거를 통해 균일한 콜라겐 펩타이드를 제조할 수 있었다(Table 2). 아미노산 분석기를 이용하여 콜라겐 펩타이드에 포함된 아미노산 구성 성분을 분석한 결과 주성분인 글라이신(Glycine) 183.36 mg/g과 프롤린(Proline) 101.23 mg/g을 포함한 여러 가지 성분을 확인할 수 있었다(Table 3).

3.4. 콜라겐 펩타이드에 이중결합 도입

동물 콜라겐에서 유래된 콜라겐 펩타이드 및 젤라틴은 현재 대부분 식품용 소재로 사용되고 있으나, 피혁 제조공정에서 발생하는 크롬 함유 피혁 폐기물은 식품용으로 재활용이 어려운 전량 폐기되고 있는 상황이다. 본 연구에서는 크롬이 제거된 이후 추출된 콜라겐 펩타이드에 라디칼 반응이 가능한 이중결합을 도입하여 다양한 아크릴 단량

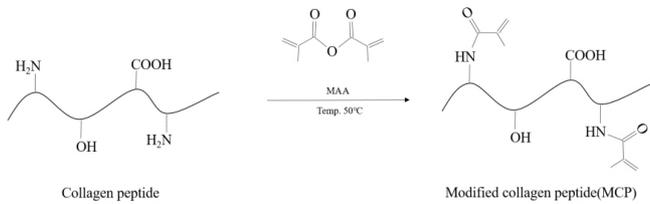


Figure 4. Proposed reaction scheme of the double bond introduction into collagen peptide.

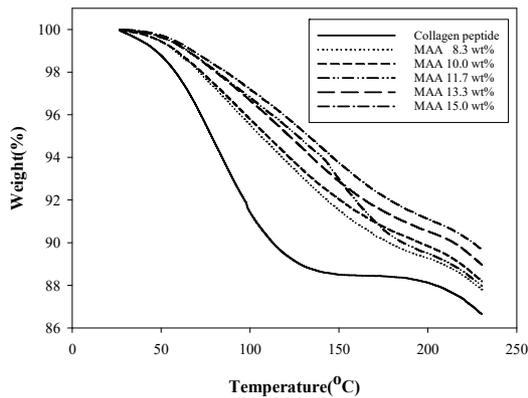


Figure 5. Effect of thermal stability depending on MAA content on collagen peptide. After dissolving the collagen peptide in 0.1 M potassium phosphate buffer solution, MAA was injected several times periodically for 2 h at 50 °C, followed by 3 h reaction with the stirring at 500 rpm.

체와 중합을 통해 다양한 적용 분야에서 사용 가능한 개질화 콜라겐 펩타이드(modified collagen peptide, MCP)를 제조하였다(Figure 4) [26-28]. 제조된 콜라겐 펩타이드 분말 대비 8.3~15.0 wt%의 MAA를 반회분 방식으로 분무 건조기를 이용하여 첨가한 후 3시간 동안 500 rpm 이상의 고속 교반하에 반응시켰다. 콜라겐 펩타이드의 lysine과 hydroxylysine의 아민그룹(NH₂)이 MAA와 반응하여 얻은 methacrylamide가 주류를 이루지만, 과량의 MAA를 사용할 경우 수산화기(OH)를 갖는 hydroxyproline, serine 등과 반응하여 methacrylate를 추가적으로 형성시킨다고 보고된 바 있다[29-30]. 이중결합이 도입된 MCP의 열중량 분석 실험을 진행한 결과로부터 200 °C에서 약 8~10%의 무게 감소율을 나타냈고, 콜라겐 펩타이드와 비교하여 MCP의 무게 감소율이 낮아 열안정성이 향상된 것을 확인할 수 있었다(Figure 5). 또한 MCP의 ¹H NMR 스펙트럼으로부터 5.4~5.7 ppm에서 콜라겐 펩타이드에서 볼 수 없는 methacrylate group의 proton peak를 확인할 수 있었다(Figure 6)[29-31].

3.5. Redox 중합 반응을 이용한 콜라겐 펩타이드-아크릴 공중합체 제조

콜라겐 펩타이드에 MAA를 반응시켜 이중결합이 도입된 MCP를 아크릴 단량체와 산화-환원반응(라디칼 반응)을 통해 콜라겐 펩타이드-아크릴 공중합체를 제조하였다(Figure 7). 콜라겐 펩타이드는 천연물 특유의 보습성, 감촉성, 수분 흡수성, 대전방지성, 유해물질 흡착성, 난연성, 생분해성 등 특성 발현이 가능하고 아크릴과 중합을 통해 열안정성 및 물성 향상을 기대할 수 있어 다양한 용도(페인트, 접착제, 섬유/피혁 처리제, 흡착제 등)로 사용할 수 있다. 콜라겐 펩타이드에

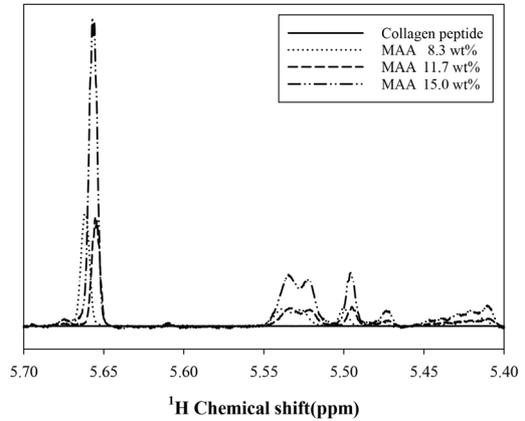


Figure 6. ¹H NMR spectra of MCP depending on MAA contents on the collagen peptide.

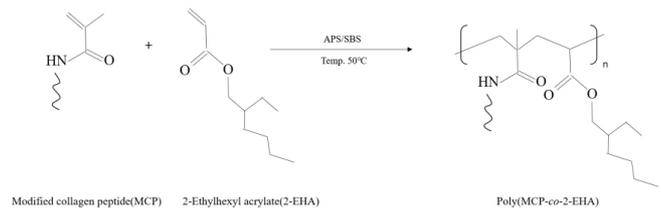


Figure 7. Preparation of collagen peptide based copolymer from redox polymerization.

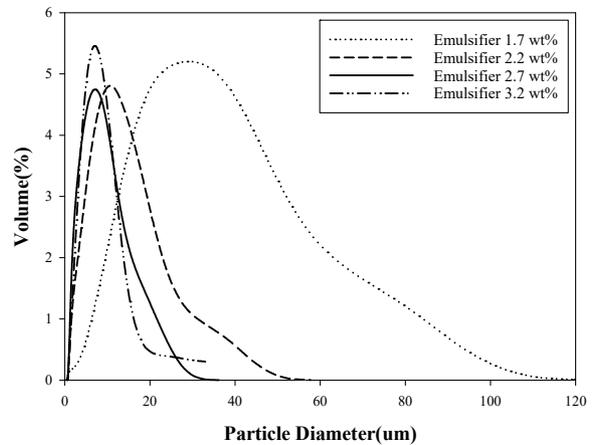


Figure 8. Effect of emulsifier contents on particle size and distribution of collagen peptide-acryl copolymer. Free emulsion(the mixture with 2-EHA, emulsifier and distilled water), initiator and reducing agent were injected to the MCP for 3 h (MCP/2-EHA ratio: 1/3, initiator content: 2.4 wt%, reducing agent content: 2.4 wt%, reaction temp.: 50 °C, reaction time: 3 h, stirring rpm: 100).

MAA 15.0 wt%가 투입된 MCP를 사용하여 단백질이 열에 의한 변성을 최소화할 수 있는 저온 산화, 환원 반응의 레독스 중합(redox polymerization)을 통해 평균 입자크기가 5~30 μm의 콜라겐 펩타이드-아크릴 공중합체를 제조하였다. 유화제 함량에 따른 콜라겐 펩타이드-아크릴 공중합체의 전환율은 약 90~95%로 측정되었으며, 유화제 함량에 따른 입자크기 변화에서 유화제의 함량이 감소함에 따라 분산도가 넓어지는 결과를 확인하였다(Figure 8). 콜라겐 펩타이드-아크릴 공

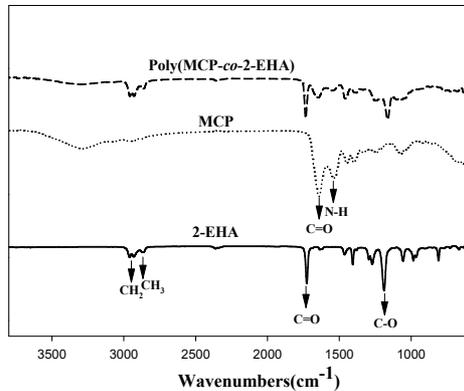


Figure 9. FT-IR spectra of 2-EHA, MCP, and collagen peptide-acryl copolymer.

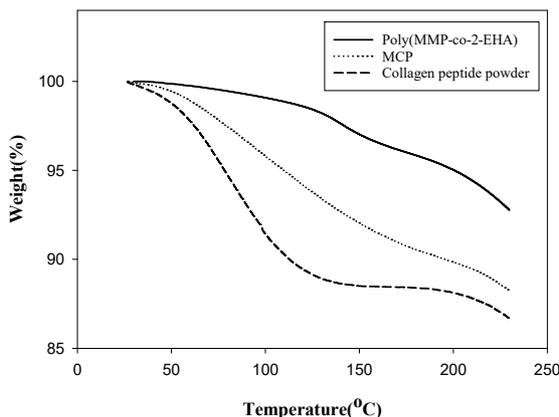


Figure 10. Thermal stability of collagen peptide-acryl copolymer, MCP, and Collagen peptide powder.

중합체의 적외선분광분석을 진행하여 2-EHA의 특성 피크인 $1,250\text{ cm}^{-1}$ 의 C-O stretch band와 $1,730\text{ cm}^{-1}$ 의 C=O stretch band를 확인할 수 있어서[21,32], MCP에 아크릴 단량체가 공중합된 것을 정성적으로 확인하였다(Figure 9). 열중량 분석결과에서 $200\text{ }^{\circ}\text{C}$ 에서의 무게 감소량은 5% 이내로 측정되어 콜라겐 펩타이드와 비교하여 열안정성이 향상됨을 확인할 수 있었다(Figure 10).

4. 결 론

본 연구에서는 피혁 제품 생산 과정에서 버려지는 유해 피혁 폐기물(셰이빙 스크랩)을 활용하여 플라스틱을 대신할 유용한 소재 개발에 대하여 연구하였다. 반응온도 및 농도에 따른 알칼리 가수분해를 통해 크롬이 제거되어 추출된 콜라겐 펩타이드의 분자량, 분산도 및 추출율을 확인하였고, 추출된 콜라겐 펩타이드의 정제 및 분말 건조를 통해 Mw 1,019, Mn 677, PDI (Mw/Mn) 1.50, 글라이신 183.36 mg/g, 프롤린 101.23 mg/g, 아스파라긴 42.09 mg/g의 바이오매스(biomass)인 콜라겐 펩타이드 분말을 제조할 수 있었다. 제조된 콜라겐 펩타이드 분말에 MAA를 반응시켜 NMR 분석을 진행한 결과 5.4~5.7 ppm에서 methacrylate group의 proton peak 확인을 통해 이중 결합을 도입함으로써 라디칼 반응이 가능한 구조적 변화를 유도하였다. 이어서 MCP를 2-EHA와 레독스 중합 반응으로 공중합체를 만든 다음, 이들에 대한 그래프트 정도를 정성적으로 확인하였으며, 평균전

환율 90~95%, 평균 입자크기 5~30 μm 를 나타내었다. 본 연구를 통하여 피혁 폐기물인 셰이빙 스크랩으로부터 콜라겐 펩타이드를 추출한 후 일정한 처리를 통하여 새로운 바이오매스로 전환할 수 있음을 확인하였다. 현재 바이오매스로 전환된 콜라겐 펩타이드와 아크릴 공중합체를 이용하여 제품 생산에 이용할 수 있는 추가 연구를 진행하고 있다.

감 사

본 연구는 2020년도 환경부의 재원으로 한국 환경산업기술원의 지원을 받아 수행한 과제입니다.

References

1. V. Ottani, D. Martini, M. Franchi, A. Ruggeri, and M. Raspanti, Hierarchical structures in fibrillar collagens, *Micron.*, **33**, 587-596 (2022).
2. C. Knupp and J. M. Squire, Molecular packing in network-forming collagens, *Adv. Protein Chem.*, **70**, 375-403 (2005).
3. J. M. Baek, K. H. Kang, S. H. Kim, J. S. Noh, and K. S. Jeong, Development of high functional collagen peptide materials using skate skins, *J. Environ. Sci. Intl.*, **25**, 579-588 (2016).
4. K. Michael, Thermal stability of hide and leather at different moisture contents, *J. Am. Leather Chem. Assoc.*, **86**, 269-280 (1991).
5. S. Swarnalatha, A. G. Kumar, S. Tandalah, and G. Sekaran, Efficient and safe disposal of chrome leather scraps discharged from leather industry using thermal combustion, *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, **84**, 751-760 (2009).
6. V. Beghetto, A. Zancanaro, A. Scrivanti, U. Matteoli, and G. Pozza, The leather industry: a chemistry insight part I: an overview of the industrial process, *Sciences At Ca'Foscari.*, **1**, 12-22 (2013).
7. R. J. Santos, D. L. S. Agostini, F. C. Cabrera, E. R. Budenberg, and A. E. Job, Recycling leather waste: preparing and studying on the microstructure, mechanical, and rheological properties of leather waste/rubber composite, *Polym. Compos.*, **36**, 2275-2281 (2015).
8. K. H. Gustavson, Evidence for the rupture of intermolecularly coordinated peptide bonds in the heat denaturation(Shrinkage) of collagen, *J. Am. Leather Chem. Assoc.*, **41**, 47-58 (1946).
9. C. Kamaraj, S. Lakshmi, C. Rose, U. Mani, E. Paul, A. B. Mandal, and S. Gangopadhyay, Experimental study on micro surfacing using chrome leather scraps impregnated with modified bitumen emulsion, *J. Sci. Ind. Res.*, **75**, 378-382 (2016).
10. J. G. Yang, Z. H. Shan, Y. W. Zhang, and L. Chen, Stabilization and cyclic utilization of chrome leather shavings, *Environ. Sci. Pollut. Res.*, **26**, 4680-4689 (2019).
11. A. Pati, R. Chaudhary, and S. Subramani, A review on management of chrome-tanned leather shavings: A holistic paradigm to combat the environmental issues, *Environ. Sci. Pollut. Res.*, **21**, 11266-11282 (2014).
12. S. Saravanabhavan, K. J. Sreeram, J. Raghava Rao, and B. Unni Nair, The three pot solution for chromium, tannins and solid wastes: recovery and reuse technique for spent semi-chrome liquor and chrome shavings, *J. Soc. Leather Technol. Chem.*, **88**, 202-207 (2004).
13. A. Przepiorkowska, K. Chronska, and M. Zaborski, Chrome-tanned

- leather shavings as a filler of butadiene-acrylonitrile rubber, *J. Hazard. Mater.*, **141**, 252-257 (2007).
14. G. Ramamurthy, B. Ramalingam, M. F. Katheem, T. P. Sastry, S. Inbasekaran, V. Thanveer, and A. B. Mandal, Total elimination of polluting chrome leather scraps, chrome, and dye exhaust liquors of tannery by a method using keratin hydrolysate, *ACS. Sustain. Chem. Eng.*, **3**, 1348-1358 (2015).
 15. M. Costa and C. B. Klein, Toxicity and carcinogenicity of chromium compounds in humans, *Crit. Rev. Toxicol.*, **36**, 155-163 (2006).
 16. R. Chaudhary and A. Pati, Poultry feed based on protein hydrolysate derived from chrome-tanned leather solid waste: creating value from waste, *Environ. Sci. Pollut. Res.*, **23**, 8120-8124 (2016).
 17. M. Catalina, G. E. Attenburrow, J. Cot, A. D. Covington, and A. P. M. Antunes, Application of gelatin extracted from chrome leather scraps for the glazed finishing of leather, *J. Am. Leather Chem. Assoc.*, **105**, 138-144 (2010).
 18. X. Dang, Z. Shan, and H. Chen, The preparation and applications of one biodegradable liquid film mulching by oxidized corn starch-gelatin composite, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **180**, 917-929 (2016).
 19. X. Dang, Z. Shan, and H. Chen, Biodegradable films based on gelatin extracted from chrome leather scrap. *Int. J. Biol. Macromol.*, **107**, 1023-1029 (2018).
 20. J. Kopecek and J. Yang, Smart self-assembled hybrid hydrogel biomaterials, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **51**, 7396-7417 (2012).
 21. X. Wang, F. Yao, J. Su, X. Zhang, X. Tong, Z. Qin, and C. Yuan, Modification of natural rubber latex by graft copolymerization of 2-ethylhexyl acrylate and methacrylic acid, *Trans. Tianjin Univ.*, **26**, 314-323 (2020).
 22. J. S. Langerwerf, Trivalent chromium a recyclable raw material of the leather industry: A questionable genotoxic substance, *J. Soc. Leather Technol. Chem.*, **69**, 166-174 (1985).
 23. J. Munoz, M. Maldonado, and A. Rangel, development of a tanning process based on using hydrolyzated material collected from leather scrap, *J. Am. Leather Chem. Assoc.*, **97**, 83-88 (2002).
 24. V. Kasparkova, K. Kolomaznik, and L. Burketova, Characterization of low-molecular weight collagen hydrolyzates prepared by combination of enzymatic and acid hydrolysis, *J. Am. Leather Chem. Assoc.*, **104**, 46-51 (2009).
 25. X. Dang, M. Yang, B. Zhang, H. Chen, and Y. Wang, Recovery and utilization of collagen protein powder extracted from chromium leather scrap waste, *Environ. Sci. Pollut. Res.*, **26**, 7277-7283 (2019).
 26. R. Alexa, H. Iovu, J. Ghitman, and A. Serafim, 3D-printed gelatin methacryloyl-based scaffolds with potential application in tissue engineering, *Polymers*, **13**, 727-744 (2021).
 27. B. H. Lee, H. Shirahama, N. J. Cho, and L. P. Tan, Efficient and controllable synthesis of highly substituted gelatin methacrylamide for mechanically stiff hydrogels, *RSC. Adv.*, **5**, 106094-106097 (2015).
 28. A. I. Van Den Bulcke, B. Bogdanov, N. De Rooze, E. H. Schacht, M. Cornelissen, and H. Berghmans, Structural and rheological properties of methacrylamide modified gelatin hydrogels. *Biomacromolecules*, **1**, 31-38 (2000).
 29. B. J. Klotz, D. Gawlitta, A. J. Rosenberg, J. Malda, and F. P. Melchels, Gelatin-methacryloyl hydrogels: Towards biofabrication based tissue repair, *Trends Biotechnol.*, **34**, 394-407 (2016).
 30. K. Yue, G. Trujillo-de Santiago, M. M. Alvarez, A. Tamayol, N. Annabi, and A. Khademhosseini, Synthesis, properties, and biomedical applications of gelatin methacryloyl(GelMA) hydrogels, *Biomaterials*, **73**, 254-271 (2015).
 31. K. Yue, X. Li, K. Schrobback, A. Sheikhi, and N. Annabi, Structural analysis of photocrosslinkable methacryloyl-modified protein derivatives, *Biomaterials*, **139**, 163-171 (2017).
 32. S. H. Park, T. H. Lee, Y. I. Park, S. M. Noh, and J. C. Kim, Effect of the n-butyl acrylate/2-ethylhexyl acrylate weight ratio on the performances of waterborne core-shell PSAs, *J. Ind. Eng. Chem.*, **53**, 111-118 (2017).

Authors

Min Seok Park; Ph.D. Candidate, Principal Researcher, Leather Research Center, Korea Institute of Footwear and Leather, Dongducheon 11303, Republic of Korea; smpark@kiflt.re.kr

Soo Beom Shin; Ph.D., Principal Researcher, Leather Research Center, Korea Institute of Footwear and Leather, Dongducheon 11303, Republic of Korea; sbsin@kiflt.re.kr

Ho Soo Kim; B.Sc., Senior Researcher, Leather Research Center, Korea Institute of Footwear and Leather, Dongducheon 11303, Republic of Korea; hskim@kiflt.re.kr

Min Soo Kim; Master Program, Student, Department of Fine Chemistry and Convergence Program of Biomedical Engineering and Biomaterials, Seoul National University of Science and Technology, Seoul 01811, Republic of Korea; aalstn1453@seoultech.ac.kr

Ha Sun Kim; Master Program, Student, Department of Fine Chemistry and Convergence Program of Biomedical Engineering and Biomaterials, Seoul National University of Science and Technology, Seoul 01811, Republic of Korea; gkts0502@naver.com

Jae Hyeok Jang; Master Program, Student, Department of Fine Chemistry and Convergence Program of Biomedical Engineering and Biomaterials, Seoul National University of Science and Technology, Seoul 01811, Republic of Korea; jsaerom98@gmail.com

Jin Kye Lee; B.Sc., Chief Technology Officer, Research and Development Center, Chunil Paint Co., Ltd, Yangju 11449, Republic of Korea; jsaerom98@gmail.com

Dong Kuk Lee; Ph.D., Professor, Department of Fine Chemistry and Convergence Program of Biomedical Engineering and Biomaterials, Seoul National University of Science and Technology, Seoul 01811, Republic of Korea; dongkuk@seoultech.ac.kr