

돈피, 닭발껍질에서 추출한 collagen의 특성

신미혜*

< 목 차 >

I. 서론	IV. 요약 및 결론
II. 재료 및 방법	참고문헌
III. 결과 및 고찰	ABSTRACT

I. 서론

Collagen은 동물 결합조직의 주요 단백질로 진피의 70%를 구성하는 섬유 단백질이다. 식품 산업에서는 가열 후 최종제품의 품질향상과 가공적성 개선을 위한 목적으로 사용하고 있다. 즉, 많은 육제품에서 재함성된 가식성 casing을 첨가하거나 천연 casing을 대체하기 위한 인공 casing의 원료로 사용되고 있으며(Hood, L.L., 1987 ; Romans, J.R. 등, 1994 ; 이창림, 1995), 수율 증진(cooking yield), 일반성분 함량 기준(proximate analysis), 보수력(water holding capacity), 유화안전성(emulsion stability), 식품내 성분의 결합강도(binding strength), 전단력(shear value), 경도(hardness), 다즙성(juiciness), 색택(color), 관능적 기호도(overall acceptability)와 같은 다양한 특성들을 향상시키기 위해 사용된다.

지금까지 collagen 원료로는 가축부산물과 생선류가 많이 쓰이며, 가축부산물로는 돈피(pork skin), 우피(beef hide), 뼈, 내장 등이 이용되는데, 그 중 돈피가 식품이나 의약품의 소재로서 가장 많이 사용된다. 돈피의 성분조성은 수분(moisture)이 44.24%, 지방(fat)이 28.29%, 단백질(crude protein)이 26.47%로 구성되어, 약 260 mg/g 정도의 collagen이 함유되어 있다(Osburn, W.N., 1996).

이처럼 collagen의 사용영역이 점차 확대됨에 따라 대량생산 및 고품질의 제품을 생산하는 것이 필요한 실정이다. 특히 닭의 가족은 매우 부드럽고 연하여 collagen의 소재로 그 이용가능성이 높으나 연구가 미비한 실정이다.

* 서울보건대학 조리예술과 교수

대한양계협회(Korea Poultry Association, 2001)에 의하면 최근 닭고기의 소비가 증가하고 있으며, 2,000년도에 약 4,000톤 정도의 닭고기가 국내에서 생산되었다고 한다. 이 중 식육부위를 제외한 닭 머리와 내장 등은 동물의 사료나 비료의 원료로서 가공되어지고 있으나, 닭발의 사용은 극히 미미하며, 수요가 많지 않기 때문에 대부분의 닭발은 폐기되고 있다. 닭발을 이용한 조리는 단지 양념에 무쳐 굽는 방법으로 활용되고 있으며, 예로부터 닭 육수의 원료로 사용되어 왔다. 오늘날 외식산업체에서는 닭발을 요리로써 이용하기보다는 육수를 끓여 농축시켜서 이용한 다양한 육수나 소스, 또는 드레싱을 만들어 다른 여러 가지 요리와 함께 곁들여서 이용하고 있는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 도계 후 거의 폐기되는 닭발의 재활용 방안마련으로, 현재 많이 사용되고 있는 돈피와 닭발 껍질의 collagen을 비교함으로써 닭발껍질의 collagen 이용가능성을 알아보고자 한다.

II. 재료 및 방법

1. 시료준비

닭발껍질은 닭을 도살한 후 뼈를 제거하여(주명식품, 2002년 7월에 구입) 증류수로 세척하고, 돈피는 돼지도축장에서 도축 후, 껍질의(성남식품, 2002년 7월에 구입) 지방을 제거하고, 3 × 3 cm 크기로 절단하여 증류수로 세척한 후 각각 -20℃ 냉동고에서 24시간 보관하였다.

2. Collagen 추출

Collagen은 Prochaska의 방법(Prochaska, J.F., 1998)에 의해 분리하였다. 즉, 냉동보관된 시료들을 만육기(Φ 2 mm)로 만육한 후 200 g을 취하여 4℃의 0.5 M acetic acid 1 L를 넣고 48시간 동안 4℃ 냉장실에서 교반하였다. Collagen이 함유된 slurry를 고속원심분리기(B-22 programmable centrifuge, International Equipment Company, USA)에서 9,000× g로 25분간 원심분리하여, 상등액을 두겹의 cheesecloth로 여과시켜 graduated cylinder로 측정하였다. Collagen은 0.7 M NaCl을 첨가, 교반하여 석출한 후 NaCl이 첨가된 용액 9,000× g(4℃)에서 25분간 원심분리하여 collagen을 침전시켰다.

침전된 collagen을 12,500(MW) 이하의 pore size를 갖고 있는 cellophane tube(Spectra Science Ltd., USA)를 이용하여 0.1 M acetic acid에서 16시간 동안 투석한 후, 처음 투석액을 2시간 정도 투석시킨 후 2회 더 교체하였다. 투석

이 끝난 collagen 용액은 -70°C 에서 냉동하여 -80°C , 20 mmHg 에서 동결건조 (SFDSF12, Samwon Freezing Engineering Co., Ltd., Seoul)하였다.

3. 단백질, 지방, 회분 측정

닭발껍질 및 돈피의 단백질, 지방, 회분 및 수분함량은 AOAC법(A.O.A.C., 1995)에 의해 측정하였다.

4. pH 및 팽윤률 측정

pH 및 팽윤률의 변화는 냉동된 돈피와 닭발껍질을 해동시킨 후 각각 300 g을 계량하여 산침용액(0.1 M acetic acid, pH 2.6)을 시료 무게의 4배가 되게 가한 후 4°C 에서 48시간 침지시켜 측정하였다. 이 때 산침시 시료의 pH 변화는 산침 용액의 pH 변화를 이용하여 간접적으로 측정하였다.

pH가 낮은 용액에 침지된 시료는 내부 단백질 분자와 용액 중 수소이온(H^+)과의 반응에 의해 점차 산침 용액의 pH는 증가하게 되고 분자간 반응이 완전하게 이루어지면 pH의 변화가 없게 되므로 용액의 pH 변화를 측정함으로써 시료의 pH 변화를 알 수 있었다(Youm, K.W., 1999).

팽윤률 측정은 시료를 침지액에서 건져낸 후 체를 사용하여 수분을 털어내고 남아있는 외부 수분을 10겹의 준비한 실험용 휴지로 흡습 제거하였다. 실온(20°C)에서 15분 방치한 후 시료의 무게를 측정하여 초기 무게에 대한 무게 증가율을 구하였다.

5. Hydroxyproline 측정

Hydroxyproline함량을 알면 collagen 함량을 알 수 있으므로 독일산업표준규격 (Lebensmittel und Landwirtschaftliche Produkte (NAL) im DIN Deutsches Institut fuer Normung e.v.: Bestimmung des Hydroxyprolinegehaltes DIN 10 144)을 이용하여 측정하였다.

먼저 원피 시료 4 g을 채취하여 250 ml의 round flask에 넣고 6.0 M HCl 30 ml를 가하여 비등석과 함께 120°C drying oven에서 8시간 동안 가열하였다. 산분해된 용액을 500 ml volumetric flask에 옮겨 증류수로 적절히 희석하고 diethylether 5 ml을 넣어 상층의 지방을 제거한 후 다시 증류수를 사용하여 500 ml로 정용하였다. 이 가수분해 용액을 1 ml를 100 ml로 희석하고 이 용액에서 4 ml를 취하여 시험관(ϕ 16 mm)에 넣고 2 ml의 chloramine-T 용액을 첨가하여 20°C waterbath에서 20분간 정치시켜 반응시킨 후 2 ml의 발색시약 (4-dimethylaminobenzaldehyde)을 넣어 60°C waterbath에서 15분간 반응시켰다.

이를 얼음물에 넣어 냉각시키고 다시 실온에서 30분간 정치한 다음 558 nm에서 흡광도(Milton Roy Company, 미국, 1995)를 측정하였다. 이때 흡광도의 측정은 시료 준비 후 20분을 넘지 않았으며, 3회 반복 측정하였다. 실험에서 얻어진 흡광도를 hydroxyproline 표준곡선에서 얻은 관계식에 대입하여 농도를 측정하였다. 표준 곡선은 5회 반복 실험하여 얻어진 값의 평균값으로 작성하였다.

6. 단백질 분리형태

Laemmli(Laemmli, U.K., 1970)의 방법에 따라서 Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis(SDS-PAGE, 5 - 10% gradient gel)를 실시하여 collagen의 전기영동적 분리형태를 비교하였다. 전기영동은 2.0 mg/ml의 gelatin 용액 10 μ l을 well에 첨가하여 실시하였다. 단백질의 분자량은 10, 15, 25, 37, 50, 75, 100, 150, 및 250 KD의 분자량을 갖는 표준단백질 (Bio-Rad, USA)을 사용하여 측정하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 돈피, 닭발 껍질의 일반성분

돈피와 닭발껍질의 일반성분을 비교한 결과 <표 1>와 같다. 수분함량에 있어서 돈피는 61.47%, 닭발껍질은 64.28%로 돈피보다 닭발껍질이 3% 정도 많았다. 이에 반해 단백질 함량은 돈피가 34.37%, 닭발껍질이 31.76%로 닭발껍질이 상대적으로 적었다. 지방과 회분의 함량은 각각 닭발껍질과 돈피에서 많았다.

<표 1> Water, protein, fat and ash contents chicken foot skins and pork defatted skin

Source	Water (%)	Protein (%)	Fat (%)	Ash (%)
Chicken foot skin	64.28	31.76	3.04	1.32
Pork skin	61.47	34.37	2.76	1.42

2. 산침시 pH 및 팽윤률

산처리는 닭발 껍질과 돈피의 collagen를 잘 추출되게 한다(Gallop, 1963). 따라서 collagen 추출을 용이하게 하기 위한 최적의 pH 상태와 팽윤률 분석을 실시하였다.

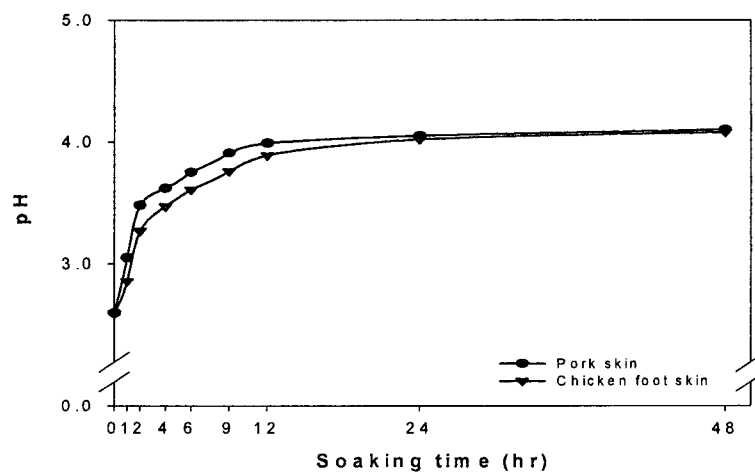
닭발 껍질과 돈피를 0.1 N acetic acid 용액에 침지 하는 동안 용액의 pH 변화는 <그림 1>과 같다. 침지된 용액의 초기 pH는 2.6으로 1시간 후에 돈피의 경우는 3.05, 닭발 껍질의 경우는 2.86으로 증가하였다. 이러한 증가 경향은 12시간 까지 지속되다가 그후 변화가 거의 없었다. pH 변화는 돈피가 초기에는 많은 변화를 보였지만 12시간 이후에는 닭발 껍질의 pH와 거의 같게 되었다.

산침 중 시료의 팽윤률을 무게의 증가는 <그림 2>과 같은 결과를 얻었다. 침지 12시간까지 두 시료의 팽윤률은 돈피가 1.69 g, 닭발껍질이 1.61 g 로 현저한 차이가 없이 크게 증가하였으며, 이후에는 매우 완만한 증가를 보였다.

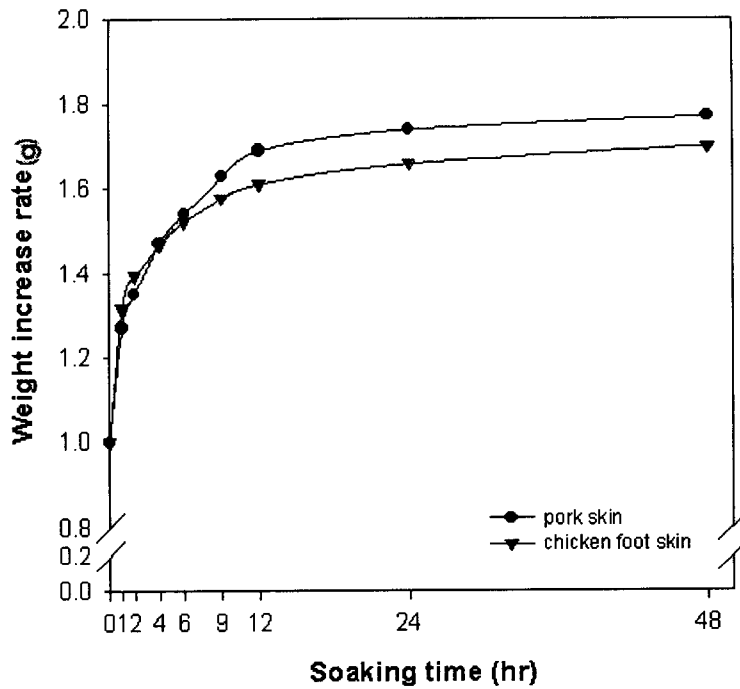
이 결과는 pH의 변화와 같은 경향을 나타내, 산침 시 닭발껍질은 돈피와 유사한 팽윤과정을 나타내는 것을 알 수 있었다.

두 결과로 볼 때 돈피와 닭발껍질의 산침을 위한 적절한 침지는 12시간 이후에는 큰 변화가 없으므로 비용면에서 효율적인 것을 감안할 때 12시간 정도가 비교적 바람직한 것으로 판단된다.

<그림 1> Changes of pH in soaking solutions of chicken foots skin and pork defatted skin at 0.1 N acetic acid solution at 4°C.



<그림 2> Weight increases rate pork chicken foot skins and defatted skin at soaking in 0.1 N acetic acid solution at 4°C.



3. Hydroxyproline 함량

<그림 3>은 hydroxyproline을 정량하기 위해 얻은 표준곡선으로 미지의 시료내 hydroxyproline의 값은 시료의 absorption dose(OD)에 대한 함수로 나타낼 수 있다. 이 때 얻은 함수는 $Y = 0.25X - 0.03$ (Y는 OD 값, X는 hydroxyproline의 농도)으로 회귀직선의 결정계수가 0.9947로 상관관계가 매우 높아 hydroxyproline의 정량을 위한 표준곡선으로 사용할 수 있을 것으로 판단하였다.

Hydroxyproline은 식품내의 collagen 함량을 알 수 있는 지표 아미노산 잔기로서 collagen을 구성하는 아미노산 구성 중 hydroxylysine과 함께 일정비(12.5 - 14%)를 차지하고 있다(Weiss, J.B. and Ayad, S., 1982). 따라서 collagen 함량을 구하기 위해 Hydroxyproline의 함량을 분석하였다.

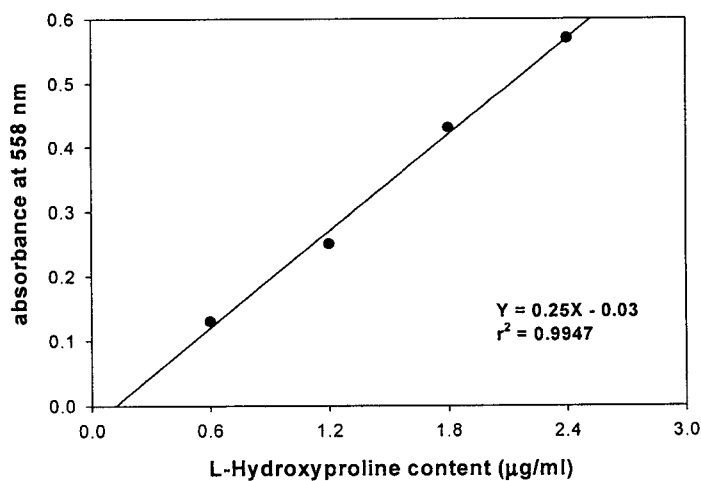
<표 2>는 돈피와 닭발껍질에 존재하는 hydroxyproline의 함량을 나타냈다. 돈피와 닭발 껍질에 존재하는 hydroxyproline의 농도는 돈피가 0.19 µg/ml, 닭발껍

질의 0.18 µg/ml로 나타났다.

이 결과는 일반성분에서 돈피의 단백질 함량이 34.37%로 닭발껍질의 31.76%보다 많이 나타난 결과와 같은 경향이다.

Collagen 결합조직의 함량은 <그림 3>의 hydroxyproline의 함량을 기준으로 collagen성 결합조직의 함량을 산출한 결과 시료 100 g 중 닭발껍질에는 약 1.49 g, 돈피에는 약 1.50 g이 존재하는 것으로 나타났다.

<그림 3> A standard curve for determination of L-Hydroxyproline in collag



<표 2> L-Hydroxyproline and collagen contents of chicken foot skins and pork defatted skin

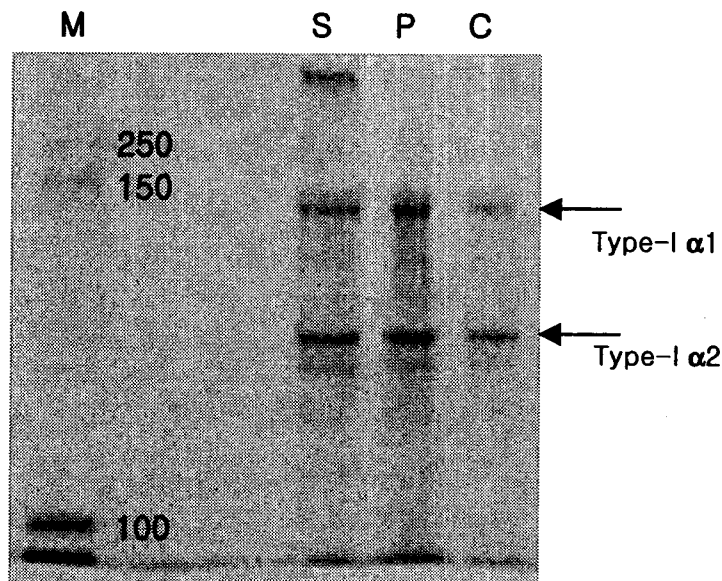
	Pork skin	Chicken foot skin
L-Hydroxyproline(µg/ml)	0.19	0.18
Collagen(g/100g)	1.50	1.49

4. 단백질 분리형태

<그림 4>은 닭발껍질과 돈피 collagen의 전기영동도이다. 전기영동 결과에서 보듯이 돈피와 닭발껍질에 존재하는 collagen은 거의 동일한 형태로 나타났으며, 분자량이 130 KD와 120 KD정도의 type I-형에서 유래되는 $\alpha 1$, $\alpha 2$ -collagen이 나타나는 것으로 볼 때 섬유상인 I-형 collagen이 주요한 collagen인 것으로 판단되었다.

McCormick와 Vijayalakshmi등(McCormick, R.J., 1994 ; Vijayalakshmi, M.A., Lemeux, L. and Aniat, J., 1986)의 보고에 의하면 전기영동 결과 가장 주된 콜라겐인 I-형 collagen 중 $\alpha 1$ -chain과 $\alpha 2$ -chain이 관찰되어 본 실험의 결과와 일치하였다.

<그림 4> Electrophoretograms of collagens extracted from chicken foot skins and pork defatted skin.



M: molecular weight standard

S: commercial collagen mixture

P: collagen from pork defatted skin

C: collagen from chicken foot skin

Numeric numbers on a gel indicate molecular weight (Kilodalton, KD).

IV. 요약 및 결론

본 연구에서는 도계 후 거의 폐기되는 닭발의 재활용 방안마련 및 식품가공 및 요리에서의 이용가능성을 알아보려고 현재 많이 사용되고 있는 돈피와 비교함으로써 닭발껍질 collagen의 이화학적 특성을 측정하였다. 그 결과는 다음과 같다.

① 닭발껍질은 돈피보다 약간 높은 수분함량(3%)을 가지며, 단백질 함량은 다소 낮았고 기타 성분함량은 차이가 없었다.

② 효율적인 collagen 추출을 위한 산침 공정 평가에서 산침시 pH와 평균물의 변화에서, 닭발껍질을 위한 산침시간은 12시간이 바람직한 것으로 나타났다.

③ Hydroxyproline 함량을 측정한 결과, 돈피가 닭발껍질보다 약간 더 많이 함유하고 있었다.

④ 닭발껍질 collagen의 전기영동 분리형태는 돈피와 매우 유사하였으며, 주요 collagen은 I-형 collagen인 것으로 나타났다.

이상의 결과로 보아 닭발껍질의 collagen 특성은 돈피와 매우 유사한 것으로 나타나 식품에의 이용가능성이 있는 것으로 보인다. 따라서 추후에 닭발 껍질의 collagen 뿐만 아니라 gelatin 특성 연구 및 요리 응용 연구가 요구되어진다.

참고문헌

- 이창림(1995). 즉석제조를 위한 케이싱. Delicatessen technology workshop
- A.O.A.C.(1995). Official Methods of analysis. *Association of official analytical chemists*. 39
- Gallop, P.M. and Seifter, S. (1963). Preparation and properties of soluble collagens. *Meth. Enzymol.*, 6
- Hood, L.L.(1987). *Collagen in sausage casings*. New York : Van Norstrand Reinhold Co.
- Korea Poultry Association (2001). 닭사육마리수에 대한 통계. 대한양계협회 홈페이지(<http://www.poultry.or.kr>).
- Laemmli, U.K.(1970). *Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4*. *Nature* 227.
- McCormick, R.J.(1994). *Structure and properties of tissues*. New York : Champman & Hall.
- Osburn, W.N. (1996). *Improving the functionality of recovered tissue protein*. Ph.D. Thesis. Univ. Nebraska, Lincoln, NE
- Prochaska, J.F.(1998). *Development of cross-linked collagen as a binding agent for restructured meat products*. Ph.D. Thesis, Texas A&M University
- Romans, J.R., Costello, W.J., Carlson, C.W., Greaser, M.L. and Jones, K.W.(1994). *The Meat We Eat*. Interstate Publishers, Inc. Nanville, IL.
- Youm, K.W.(1999). *The influence of acid and heat treatment processing on the physicochemical properties of gelatin extracted from pork skin*. Master's Thesis, Konkuk University
- Vijayalakshmi, M.A., Lemeux, L. and Aniat, J.(1986). High performance size exclusion liquid chromatography of small molecular weight peptides from protein hydrolysates using methanol as a mobile phase additive. *J. Liquid Chromatogr.* 9
- Weiss, J.B. and Ayad, S.(1982). *An introduction to collagen*. New York, NY : Churchill Livingstone.

ABSTRACT

**Properties of collagen extracted from chicken
foot skins**

Mee-Hye Shin

This study was conducted to present the fundamental data on physicochemical properties of chicken foot collagen by the comparison with those from pork skin, which is present used in the factories as evaluate the usability of chicken foot in the industries of collagen production. Moisture content of chicken foot skin (CFS) was higher than that of pork skin (PS), and crude protein content was higher in PS. Content of other compositions was not different in both samples. At the evaluation of the soaking processing, effective time lapsed for soaking the skin in acid solution (acetic acid of 0.1 M) was about 12 hr for efficient extraction of collagen, when tested by the changes of pH of the soaking solution and the increase of the weight of skins. L-Hydroxyproline of PS was slightly higher than that of CFS. Collagens were loaded in a SDS-PAGE and compared. Separated pattern of collagen of CFS was very similar to that of PS. Major collagen of CFS might be clarified as type I collagen.

3인 익명심사 畢

2002년 02월 23일 논문접수

2002년 04월 10일 최종심사