

## 鷄內金の 효소학적 특성 연구

김도완<sup>#\*</sup>

건동대학교 한약재개발학과

### A Enzymatical Characteristics Study of Kyenegum

Do-Wan Kim

Dep. of Oriental Medicine Process, Kundong University, Andong 760-833, Korea

#### ABSTRACT

**Objective :** Kyenegum(Galli Stomachichum Corium) has been popularly used long as the digestive. The purpose of this study was to investigate the enzymatic characteristic of Kyenegum crude enzyme.

**Methods :** To evaluate of the enzymatic characteristic of Kyenegum, we examined the activity of Kyenegum crude enzyme from optimum solvent, optimum temperature and pH of crude Kyenegum extract. Futhermore, we examined the effects of NaCl and acidity of crude Kyenegum extract.

**Results :** The Kyenegum was composed with crude protein about 20%, crude lipid 2%. The optimum Kyenegum dry condition, optimum extract solvent, optimum temperature and optimum pH were 4~6 hours at 60°C, commercial apple vinegar, 50°C and 2.0.

**Conclusion :** The result suggests that the Kyenegum crude enzyme extract very strong enzyme in temperature, NaCl and acidity, respectively.

---

**Key words :** Kyenegum, Galli Stomachichum Corium, Enzyme, Extract,

## 서론

최근 외식산업의 발달과 구제역, 광우병 등의 발병으로 인해 닭고기 소비량이 급격히 늘어나고 있으며, 닭고기 소비량의 증대는 닭 모래주머니 등 각종 닭고기 부산물의 발생량 또한 증가시키고 있다<sup>1)</sup>.

鷄內金(Galli Stomachichum Corium)은 꿩과(Phasianidae) 동물인 집닭(Gallus gallus domesticus Braisson)의 모래주머니인 胃膜 내벽을 채취하여 건조한 것으로 불규칙적인 긴 타원형 모양이고 두께가 약 2 mm 정도이며 표면은 황록색이거나 황갈색으로 얇고 반투명하며 뚜렷한 물결 무늬의 주름이 있다. 그 질이 약하여 잘 부서지고, 단면도 각질처럼 광택이 있다<sup>2,3)</sup>.

계내금의 성미는 약간 서늘하지만 대체로 평하고, 독이 없으며, 맛은 달며, 歸經은 膀胱, 脾, 胃, 大腸經이며, 食積을 삭이는 작용이 강해 여러 가지 음식의 積滯를 치료한다. 또한 健運하여 瀉痢나 反胃吐食의 증상도 치료하며, 단맛으로 和緩하고 약간 차가운 약성으로 淸熱하여 解毒消腫하는 효능이 있어 走馬牙疳, 喉閉乳蛾, 입 속의 瘡를 치료한다. 이 외에 固澀止遺 효과가 있어 遺尿, 遺精을 치료하고, 通淋利尿하여 石淋을 치료하며, 淸熱止煩하여 煩熱을 없애고, 散結消癥하여 痰癰, 癥瘕, 經閉, 眼翳, 小兒疳積을 치료하는 효능이 있다<sup>4)</sup>. 계내금을 분석한 결과, ventriculin이 함유되어 있어서 胃液分泌를 촉진하며, keratin에는 糖蛋白質을 일부 함유하고 있다는 보고도 있다<sup>5)</sup>. 본 연구에서는 한방에서 消食藥으로 많이 사용되고 있으나, 현재까지 국내에서 체계적인 연구가 없었던 계내금의 본초학적 규격 연구에 필요 한 기초 자료를 제공하고, 계내금의 활용 가치를 증진시킬 목적으로 계내금으로부터 조효소액을 추출한 후 그 일반적인 특성을 조사하였기에 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료

실험에 사용한 계내금은 대구 칠성시장에서 수거하여 깨끗이 세척한 후 일정량씩 포장하여 -45℃ 냉동고에 보관하면서 필요할 때 해동하여 사용하였다. 계내금 조효소 추출용 시료는 냉동 보관된 계내금을 건조한 후 분말로 만들어 실험에 사용하였다(Fig.

1).

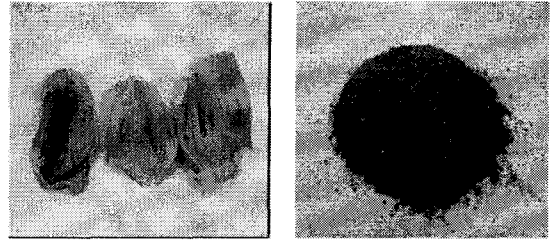


Fig. 1. Photographs of raw Kyenegum(left) and Kyenegum powder(right).

### 2. 방법

#### 1) 계내금의 일반성분 분석

일반성분은 AOAC법<sup>6)</sup>에 준하여 실시하였다. 즉, 수분함량은 105℃ 상압 가열 건조법으로, 조단백질 함량은 Micro Kjeldahl법으로, 조지방 함량은 Soxhlet 추출법으로, 그리고 조회분 함량은 550℃ 건식 회화법으로 각각 분석하였다. 탄수화물 함량은 100에서 상기 성분들을 제외한 양으로 하였다.

#### 2) 생 계내금의 온도 영향

닭 모래주머니 각질 내벽에서 얻은 생 계내금을 약재로 사용하고, 약효 성분을 증진시키기 위해서는 생 계내금의 최적 건조 조건이 요구된다. 건조 온도가 계내금 효소 활성에 미치는 영향을 알아보기 위해 생 계내금을 40, 60, 80, 100℃에서 각각 건조시킨 후 추출한 효소의 활성을 측정하였다. 또한 추출 시간에 따른 효소의 활성 변화를 조사하기 위하여 60℃에서 2, 4, 6, 8시간 동안 건조시킨 후 생 계내금에서 추출한 효소의 활성을 비교 조사하였다. 실험 결과는 온도와 시간 경과에 따라 건조된 계내금을 식초 용매에서 추출한 후 계내금 조효소의 활성도로 나타내었다.

#### 3) 계내금 추출 용매 설정

계내금의 추출을 위한 최적 용매를 조사하고자 일반 증류수, 초산(pH 2.42), McIlvaine buffer(0.1 M citric acid + 0.2 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, pH 2.42), 시판중인 사과식초(S식품, 총산 6.82), 감식초(C식품, 총산 4.14), 현미식초(S식품, 총산 6.70), 양조식초(S식품, 총산 6.70)를 실험에 사용하였다. 각각의 용매 100 mL에 건조된 계내금 분말 5 g을 혼합한 후 균질기

를 이용하여 250 rpm에서 10분간 교반시킨 후 여과지(Whatman No.1)로 감압 여과한 액의 효소 활성을 측정하였다.

4) 계내금 조효소액 제조

계내금 조효소액의 제조는 냉동 보관중인 생 계내금을 60°C 건조기에서 4시간 건조시킨 분말 25 g과 시판 사과식초(S식품, 총산 6.82, pH 2.42) 500 mL을 균질기(HF-93S, SMT Co., Japan)를 사용해 250 rpm에서 10분 교반한 후 40°C water bath(HB-21, Han bak Co., Korea)에서 150 rpm으로 9시간 동안 진탕하면서 효소를 추출하였다. 계내금 추출액을 여과지(Whatman No.1)로 감압 여과(Circulating aspirator, WJ-15, Sibata Co., Japan)한 여액을 조효소액으로 사용하였다.

5) 계내금 조효소의 활성 측정

계내금 조효소의 활성 측정은 Folin 비색법<sup>7)</sup>을 사용하였다. 기질로는 2.0%(w/v) casein을 사용하였는데, casein 1.5 mL에 McIlvaine buffer 1 mL을 첨가하여 50°C water bath에서 3분 예열시킨 후 효소액 0.5 mL을 첨가하고, 50°C에서 60분간 반응시켰다. 그 후 3 mL의 0.4 M trichloroacetic acid(TCA)를 첨가하고 여과지(Whatman No. 1)로 여과하여 얻은 여과액 1mL과 0.4 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 5 mL과 2배 희석시킨 phenol 시약 1 mL을 넣고 50°C에서 30분간 발색 후 분광 광도계를 이용하여 660 nm에서 흡광도를 측정하였다. 효소활성은 50°C에서 60분간 1 μg에 상당하는 tyrosine을 생성하는데 필요한 효소량을 1 unit로 하였다<sup>8)</sup>.

6) 계내금 조효소액의 최적 온도 및 pH

계내금 조효소액의 최적 활성 온도는 30~70°C 범위에서 효소를 60분 동안 반응시킨 후 활성을 측정하였으며, 계내금 조효소액의 최적 pH 측정은 0.1 M citric acid와 0.2 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>를 이용하여 pH 1.6, 2.0, 2.4, 2.8, 3.2를 제조하고, 50°C에서 60분 동안 조효소액을 반응시킨 후 효소 활성을 측정하였다<sup>9)</sup>.

7) 계내금 조효소액의 NaCl 및 내산성 영향

NaCl의 농도가 계내금 조효소액의 활성에 미치는 영향을 조사하고자 McIlvaine buffer에 0, 5, 10, 15, 20, 25%(w/v)의 NaCl을 첨가하여 농도가 서로 다른 NaCl 용액을 조제한 후 50°C에서 60분간 반응시킨

후 계내금 조효소의 활성을 측정하였다<sup>10)</sup>. 예비 실험에서 내산성 효소로 밝혀진 계내금 조효소를 초산 처리한 후 활성의 변화를 조사하였다. 즉, McIlvaine buffer에 3~30%(v/v)의 초산을 첨가하여 다양한 농도의 초산 용액에 기질을 용해한 것을 효소 반응 용액으로 한 것과 buffer 용액에 기질을 용해한 대조구의 효소 활성을 측정하여 대조구에 대한 상대적인 효소 활성을 나타내었다. 본 실험에서 총산 정량은 증류수 50 mL을 가하고 1% phenolphthalein 지시약을 이용하여 0.1 N NaOH 용액으로 중화 적정한 후 적정 소비량에 0.0060을 곱하여 초산으로 환산하였다<sup>11)</sup>.

결 과

1. 생 계내금의 일반성분 분석

본 실험에 사용한 계내금의 일반 성분을 분석한 결과, 계내금은 수분 함량이 약 78.2%로 가장 많았으며, 조단백질 함량은 18.9% 정도였으며, 조지방은 2.0%, 회분은 0.8%, 탄수화물 0.1%로 나타났다 (Table 1).

Table 1. Proximate Composition of Raw Kyenegum

Composition	Content(%)
Crude Moisture	78.2±0.3
Crude Protein	18.9±0.5
Crude lipid	2.0±0.3
Carbohydrate	0.1±0.4
Crude Ash	0.8±0.3

2. 생 계내금 효소의 온도 영향

생 계내금을 여러 온도에서 건조시킨 결과, 60°C에서 계내금 조효소액의 활성이 가장 높았다(Fig. 2). 60°C에서 시간 경과에 따른 계내금 조효소액의 활성을 측정한 결과, 4~6시간 동안 건조시켜도 활성은 유지되는 것으로 나타났다(Fig. 3).

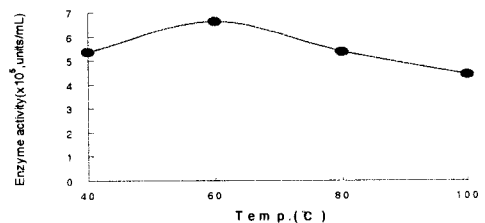


Fig. 2. Effect of dry temperature on enzyme activity of raw Kyenegum.

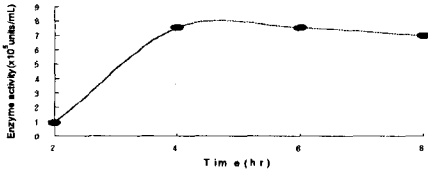


Fig. 3. Effect of dry time on enzyme activity of raw Kyenegum at 60°C.

### 3. 계내금 추출 용매 설정

각각의 용매를 이용하여 계내금을 추출한 후 조효소의 활성을 측정된 결과, 시판 사과식초(7×105 units/mL)에서 가장 활성이 높게 나타났으며, 그 다음으로 양조식초, 현미식초, 초산 추출액 순으로 나타났으며, 증류수를 이용한 계내금의 열수 추출은 시판 사과식초 추출액 활성의 50%에도 미치지 못하였다(Fig. 4).

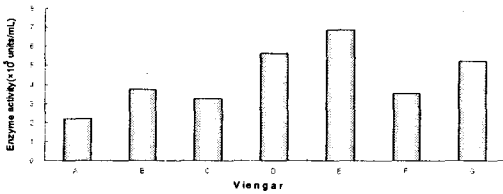


Fig. 4. Comparison of Kyenegum crude enzyme activity by different vinegar(A ; D.W, B ; Acetic acid, C ; McIlvaine buffer, D ; Brewing vinegar, E ; Apple vinegar, F ; Persimmon vinegar, G ; Brown rice vinegar).

### 4. 계내금 조효소의 온도 및 pH 영향

계내금 조효소의 최적 활성 온도를 실험한 결과, 30~50°C까지는 온도 증가에 따라 활성도가 증가 하였으나, 50°C 이상에서는 서서히 감소하였다(Fig. 5). 계내금 조효소의 최적 pH를 조사한 결과, pH 2.0에서 가장 높은 활성도를 보였다(Fig. 6).

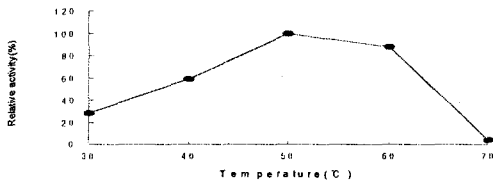


Fig. 5. Effect of temperature on the activity of Kyenegum crude enzyme.

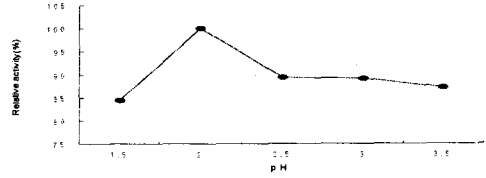


Fig. 6. Effect of pH on the activity of Kyenegum crude enzyme.

### 6. 계내금 조효소액의 NaCl 및 내산성 영향

NaCl 농도 변화에 따른 계내금 조효소액의 활성을 조사한 결과, 계내금 조효소액은 NaCl 농도 10% 이하에서 80%의 효소 활성도를 나타내었고, 10% 이상의 NaCl 농도에서는 효소 활성이 급격히 감소하였다(Fig. 7). 초산 농도가 계내금 조효소의 활성에 미치는 영향을 실험한 결과, 초산 함량이 15%(v/v)까지는 초산의 농도에 비례하여 계내금 조효소의 활성도도 증가하였으나, 15% 이상에서는 활성이 급격히 감소하는 것으로 나타났다(Fig. 8).

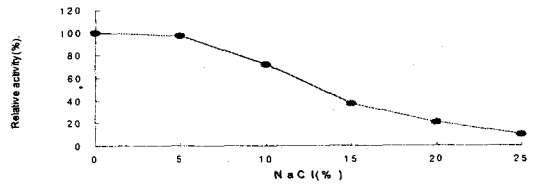


Fig. 7. Effect of NaCl on the activity of Kyenegum crude enzyme.

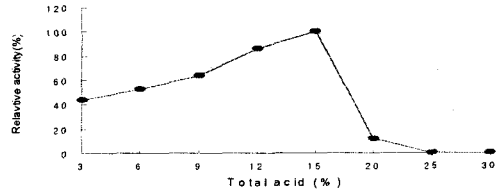


Fig. 8. Effect of acid on the activity of Kyenegum crude enzyme.

## 고찰

본 논문은 한방에서 사용 빈도가 높으나 국내에서 체계적인 연구가 부족한 계내금의 본초학적 규격화와 효소학적 활용 가치를 증진하고자 계내금 추출액의 최적 추출조건과 계내금 추출액의 효소학적 일

반특성을 조사하였다. 계내금은 여러 가지 음식의 積滯, 瀉痢, 反胃吐食, 解毒消腫, 遺尿, 遺精 등을 치료하며, ventriculin이 함유되어 胃液分泌를 촉진하고, keratin은 糖蛋白質을 함유하고 있다고 한다. 이와 같이 계내금은 소화약제 효능이 잘 알려져 있으므로 여러 가지 음식물의 분해를 촉진시킬 수 있는 효소의 잔존 함량이 높을 것으로 예상된다.

본 연구에 사용한 계내금의 일반성분을 조사한 결과, 수분 78.2%, 조단백질 18.9%, 조지방 2.0%였는데 수분을 제외하고 조단백질 함량이 약 20%로 많은 것도 효소의 대부분이 단백질로 구성되어 있음을 감안할 때 계내금에 효소량이 풍부함을 유추할 수 있다.

계내금을 약재로 이용하기 위해서는 생계내금의 최적 건조 조건의 확립이 요구된다. 건조의 일반적인 방법에는 열풍건조와 동결건조 2가지가 있으나 본 연구에서는 경제성을 감안하여 다양한 온도에서 열풍 건조를 실시한 결과, 60℃에서 4~6시간 동안 건조했을 때 가장 높은 활성을 보였다. 계내금의 최적 추출용매 선정에 위해 증류수와 시판식초, 초산 등 다양한 용매에서 추출한 후 계내금 조효소액의 활성을 측정하여 결과, 시판 사과식초에서 가장 높게 나타났으며 이는 식초의 초산 농도 영향으로 판단된다. 계내금 조효소액의 활성에 미치는 최적온도는 50℃였으며, pH는 2.0이었다. 이상의 결과에서 볼 때 계내금 조효소액은 온도에 매우 안정하며 내산성 효소로 밝혀졌다. 실제 대부분의 효소가 온도에 민감하고, 중성의 pH에서 최적 활성을 나타낼 때 계내금으로부터 유래하는 효소는 매우 활용 가치가 높은 효소제로 개발 가능성이 높다.

NaCl 농도와 산도가 계내금 조효소액의 활성에 미치는 영향을 조사한 결과, 10% 이하의 NaCl 농도에서는 계내금 조효소액의 활성이 80% 이상 유지하여 내염성이 매우 강한 것으로 나타났으며, 초산 함량 15%(v/v)까지는 초산 농도에 비례하여 계내금 조효소액 활성이 증가하는 것으로 보아 매우 강한 내산성 효소이다. 이것은 계내금 조효소의 활성이 초산 함량이 높을수록 활성이 지속적으로 증가하는 것이 아니라 최적 초산 농도 범위를 벗어나면 오히려 효소 활성에 저해를 주는 것으로 나타났다. 내산성인 *Aspergillus niger* K-25가 생산하는  $\alpha$ -amylase를 정제한 결과 시판 효소와는 달리 최적 pH가 4.0이었다는 결과와 일치하였다<sup>12)</sup>.

이상의 실험 결과를 종합해 볼 때, 한방에서 사용 빈도가 높은 계내금에서 추출한 조효소액은 온도와

pH에 매우 안정하며 내산성 및 내염성이 우수하였다. 따라서 본 연구를 통해 계내금의 본초학적 규격인 약재의 진위 여부와 양품의 검사에 활용할 수 있는 기초 자료와 계내금의 활용 가치를 높일 수 있는 기본 데이터가 마련되었으며, 향후 계내금의 본초학적 표준화를 위한 계내금 효소 단백질에 대한 구체적인 연구가 요구된다.

## 결론

계내금에서 추출한 조효소액의 일반 특성을 조사한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 계내금의 일반성분은 수분 78.2%, 조단백질 18.9%, 조지방 2.0%, 조회분 0.8%, 탄수화물 0.1%였다.
2. 생 계내금의 최적 건조 조건은 60℃에서 4~6시간 동안 이었으며, 최적 추출용매는 시판 사과식초(총산 6.82)였다.
3. 계내금 조효소액의 최적 온도는 50℃, 최적 pH는 2.0 이었으며, NaCl 농도 10% 이하까지와 총산 함량 15%(v/v)까지는 매우 안정하여 계내금 조효소액은 내염성, 내산성인 것으로 밝혀졌다.

## 감사의 글

본 연구는 2004년 지역산업(공통)기술개발사업의 일부로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

1. 통계청. 2003년 농수산물통계연감 닭고기 수급상황. 통계청. 2003.
2. 배병철. 본초약재도감. 서울:전통의학연구소. 1978.
3. 강병수 외. 본초학. 서울:영림사. 1999:374.
4. 서부일. 알기쉬운 본초학. 대구:대구한의대학교출판부. 2004:245.
5. 김창민 외. 중약대사전. 서울:도서출판 정담. 1997:233
6. Association of official Analytical chemists. Official methods of analysis 15th ed. Washington DC., USA:AOAC. 1990.

7. Bradford MM. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantitative of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 1976;72:248-254.

8. Hull ME. Studies on milk proteins II. Colorimetric determination of the partial hydrolysis of the proteins in milk. *J. Dairy Sci.* 1974;30:881-884.

9. Kim SY. Studies on the acid stable protease from *Penicillium* sp. (part I) Isolation of *Penicillium* sp. and the properties of the acid protease. 1973;1(2):93-99.

10. Jeong YJ, Yeo SH and Lee OS. Study on the simultaneous production of the bacterial cellulose and vinegar by *Gluconacetobacter persimmonis* KJ145T. *Korean J. Food & Nutr.* 2003;32(7):981-986.

11. Jeong YJ, Seo KI and Kim KS. Physicochemical properties of marketion and intensive persimmon vinegar. *J. of East Asian of Dietary Life.* 1996;6:355-363.

12. Cho MH. Purification and characterization of acidstable  $\alpha$ -amylase of *Aspergillus niger* K-25. *Kor. J. Mycol.* 1989;17(3):145-147.