

효소를 이용한 저분자 토종 닭발 콜라겐의 제조 및 품질 특성

정경아¹ · 이창주^{1,*}

¹원광대학교 식품생명공학과

Preparation and quality characteristics of low molecular weight collagen treated with hydrolytic enzymes from Korean native chicken feet

Gyeong A Jeong¹ and Chang Joo Lee^{1,*}

¹Department of Food Science and Biotechnology, Wonkwang University

Abstract The purpose of this study was to prepare low-molecular weight collagen using a commercial proteolytic enzyme (Protamex) from collagen extracted from feet of Korean native chicken and to investigate the quality characteristics of this collagen. The collagen content of Korean native chicken feet was 13.9 g/100 g, which was higher than the 6.21 g/100 g of general broilers. It was found that the content of low molecular weight collagen increased as the concentration of proteolytic enzymes and reaction time increased. In particular, reaction with 1% Protamex for 7 h resulted in 55.6% of low molecular weight (1,000-5,000 Da) collagen content, and the average molecular weight was 5,390 Da. Regarding the texture of the enzyme-treated collagen, the collagen with high molecular weight peptides decomposed into low molecular weight peptides, and the gel type could not be formed, whereas the sol type was maintained.

Keywords: chicken feet, collagen, low molecular weight peptides

서 론

현대 사회의 발전과 경제 성장은 경제적 풍요로움을 가져다 주었고 이에 따라 삶의 질 향상과 건강 수명에 대한 관심이 높아지고 있다. 건강기능식품의 생산량이 2018년대비 2019년도에 17.0% 증가하며 꾸준한 상승세를 나타내고있다(MFDS, 2020). 건강기능식품의 증가로 다양한 식품군이 사용되고 있으며 그중 닭고기는 기능성 화합물 및 미량 영양소의 훌륭한 공급원이며 많은 미네랄을 포함하고 있다(Lee 등, 2019).

토종 닭(*Gallus gallus domesticus*)은 낮은 시장 점유율로 육계에 비해 생산량이 3%에 불과하다(Sohn 등, 2021). 이러한 문제들로 토종 닭의 신제품 생산(Sohn 등, 2021), 토종 순종계를 이용한 토종 닭 생산 등 토종 닭 활용 연구가 진행되고 있다(Park 등, 2010). 토종 닭, 육계, 도계 및 가공처리에서 나오는 비가식 부위(닭발, 닭벼슬, 머리 등)를 재활용함으로써 환경오염을 줄일 수 있으며(Lim 등, 2002), 그중 닭발은 뼈와 힘줄, 가죽으로 구성되어 있어 콜라겐 소재로 이용가능성이 높다고 알려져 있다(Shin 등, 2008). 특히 토종 닭은 일반 육계(broiler chicken)에 비해서 높은 콜라겐 함량을 가지고 있다고 보고되었다(Choe 등, 2010). 콜라겐은 동물 결합조직에 주로 존재하는 단백질로 전체 동물 단백질의 약 30%를 차지하고 있다(Hashim 등, 2014). 이러한 콜라겐

은 피부와 모발을 구성하는 성분으로서 동물의 껍질에 많이 함유되어 있으며, 특히 어류나 돼지, 닭고기에는 많은 콜라겐이 존재한다(Jeon 등, 2016). 또한 콜라겐은 anti-aging과 관련하여 피부탄력 개선에 도움을 주는 구성 물질로 알려져 있으며(Zhao 등, 2021), 골다공증, 무릎 관절염, 면역력 증진 및 성장발육 촉진 등의 효능도 있다고 보고되었다(Lugo 등, 2013). 콜라겐을 이루는 아미노산의 조성은 타입에 따라 차이가 있으나 대부분 glycine이 전체의 1/3정도이며, proline이 1/4, hydroxyl-proline이 1/7로 구성되어 있다(Kim 등, 2010). 아미노산인 hydroxyproline은 hydroxylysine과 함께 일정비율(12.5-14%)을 구성하며 콜라겐을 정량하는 지표 성분으로 이용되고 있다(Yang과 Hong, 2014). 돈피콜라겐(Jeon 등, 2016), 명태껍질유래 콜라겐(Yang과 Hong, 2014), 송어 비늘의 저분자 콜라겐(Kim 등, 2009), 불가사리 콜라겐(Kwon 등, 2007), 한우 뼈 부위의 콜라겐(Yoon 등, 2015), 해파리 콜라겐(Kim 등, 2016), 상어 껍질 콜라겐(Kim 등, 2010) 등 부산물들을 이용한 콜라겐의 활용 연구가 많이 진행되고 있다.

시중에 판매되는 콜라겐 펩타이드는 2,000-20,000 Da로 광범위한 분자량 분포를 가지고 있다(Khiari 등, 2014). Koopman 등(2009)에 의하면 저분자량 펩타이드의 섭취는 장에서 흡수를 증가시켜 생체 이용률을 높인다고 보고하였다. 이에 따라 Khiari 등(2014)은 일반적인 광범위한 분자량을 가진 콜라겐 보다 저분자량(2,000 Da 이하)의 콜라겐이 소비자들에게 선호도가 높아질 것이라고 보고하였다. 닭발 콜라겐은 식품 및 제약산업에서 다양한 용도로 추출되는데 일반적으로 산성, 알칼리성 및 효소가수분해 방법에 의해 생산된다(Dhawal 등, 2018). 산성 또는 알칼리에 의한 콜라겐 추출 방법은 다량의 산 폐수를 생산하게 되며, 이에 따른 환경오염 및 폐수처리 비용 등의 문제점이 있다고 보고되었다(Jayathilakan 등, 2012). 따라서 친환경 기술을 이용한 고부가가치 생산기술이 필요하다. 본 연구에서는 토종 닭발에서 추출

*Corresponding author: Chang Joo Lee, Department of Food Science and Biotechnology, Wonkwang University, Iksan, Jeonbuk 54538, Republic of Korea
Tel: +82-63-850-6825
Fax: +82-63-850-7308
E-mail: cjlee@wku.ac.kr
Received November 7, 2021;
accepted November 16, 2021

한 콜라겐을 상업용 단백질 분해효소를 이용하여 저분자 콜라겐을 제조하고 이에 따른 품질 특성을 조사하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 연구에 사용된 토종 닭발은 (주)하림(Harim, Iksan, Korea)에서 당일 도살된 토종 닭(*Gallus gallus domesticus*)에서 채취한 것을 사용하였다. 털, 흙 등의 외부 불순물을 제거하기 위해 닭발을 3회 수세하고, 내부의 핏물과 불순물을 제거하기 위하여 초음파 세척기(AY-1500, Anyone, Suwon, Korea)에서 주파수 공칭 28 kHz, 1.36 kW로 25분간 처리 한 후 물기를 제거하고 밀봉하여 -18°C 에서 냉동 보관하며 실험에 사용하였다.

토종 닭발 콜라겐 추출

토종 닭발의 추출물은 원료량의 2배수의 정제수를 넣고 100°C 에서 9시간 가열한 후 추출액이 원료량의 50%가 되도록 농축하였다. 추출물은 150 mesh체에 한번 통과시킨 후 실험에 사용하였다.

조단백질 및 콜라겐 함량 측정

토종 닭발추출물의 조단백질 함량은 AOAC (2016)의 Micro-Kjeldahl 방법으로 분석하였으며, 질소 환산 계수는 6.25를 사용하였다. 콜라겐 함량은 Kolar (1990)과 Edwards와 O'Brien (1980)의 방법에 따라 hydroxyproline을 정량 한 다음, 계수 8을 곱한 값으로 하였다. 시료 1 g을 6 N HCl에 넣은 후 105°C 의 dry oven에서 16시간 가수분해하였다. 분해액을 희석하여 Chloramine T 용액 1 mL과 혼합한 후 20분 실온에 방치하고, color reagent 1 mL를 혼합한 후 60°C water bath에서 15분간 반응시켰다. 반응 용액을 냉각시킨 뒤 550 nm에서 흡광도를 측정하여 hydroxyproline의 함량을 계산하였다.

효소처리 저분자 콜라겐 제조

콜라겐을 분해하는 효소로 Protamex (1.5 AU-A/g, Novozymes, Bagsvaerd, Denmark) serine계 endoprotease를 사용하였다. 닭발 콜라겐 추출물을 0.1 N HCl을 이용하여 pH 6.5-7.0으로 조절하고 시료량 대비 효소 0.1%와 1% (w/w) 수준으로 각각 첨가한 후 60°C 에서 0, 1, 2, 3, 5, 7시간 혼합하며 반응시키고, 100°C 에서 15분간 끓여 효소반응을 정지시켰다. 효소반응물은 4°C 의 냉장고에 보관하며 분석 시료로 사용하였다.

효소처리 콜라겐의 분해 pattern 및 분자량 분포도 측정

효소처리 닭발 콜라겐의 단백질 분해 pattern과 분자량은 전기영동 및 gel permeation chromatography (GPC) HPLC를 이용하여 분석하였다. 단백질의 분해 pattern은 Laemmli (1970)의 방법에 따라서 sodium dodecylsulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)를 사용하여 측정하였다. 전기영동 gel은 12% separating gel과 5% stacking gel에 loading하여 전기영동 한 후, 0.1% Coomassie Brilliant Blue R 250 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)으로 염색하고 탈색하여 분자량 band를 확인하였다. 분자량 분포도와 평균분자량은 HPLC system (LC-2000 Plus, Jasco, Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였다. 반응물을 $0.45\ \mu\text{m}$ membrane filter를 통과시킨 후, Shodex Protein KW-802.5 (I.D. 8 mm \times 300 mm; Shodex, Tokyo, Japan) column을 사용하여 분석하였다. 분석 유속은 0.9 mL/min, 흡광도는 UV 220 nm, 이동상

Table 1. Texture analyzer operating condition for chicken feet collagen treated with Protamex

Measurement	Condition
Test type	TPA test
Measurement type	Two bite compression
Sample size	$\Phi 90 \times 10$ mm
Probe	35 mm dia, circle
Test speed	4.0 mm/sec
Deformation	50%
Trigger force	5 g

용매는 0.3 M NaCl이 포함된 50 mM phosphate buffer로 분석하였다. 표준단백질은 thyroglobulin (669 kDa), β -amylase (200 kDa), alcohol dehydrogenase (150 kDa), albumin (66 kDa), carbonic anhydrase (29 kDa), cytochrome c (12.4 kDa), aprotinin (6.5 kDa), cyanocobalamin (1.3 kDa)를 Sigma-Aldrich 제품으로 사용하여 분자량 검량선을 작성하고 시료의 평균 분자량을 측정하였다.

색도 측정

효소처리 닭발 콜라겐의 색은 색도계(Model CM-5, Minolta Co., Tokyo, Japan)를 사용하여 Hunter값인 L, a, b값을 표준 백색 판으로 보정한 후 측정하였다. 명암도를 나타내는 L값(lightness), 적색도를 나타내는 a값(redness), 황색도를 나타내는 b값(yellowness)을 측정하고, 색도차(ΔE)는 $\Delta E = \sqrt{L^2 + a^2 + b^2}$ 로 계산하였다.

조직감 측정

효소처리 닭발 콜라겐의 조직감은 Texture Analyzer™ (TA-XT2, StableMicro System, Godalming, Surrey, England)를 사용하여 측정하였다. 닭발 콜라겐을 페트리디쉬($\Phi 90$ mm \times 15 mm)에 굳혀 plate form에 올려놓고 시료 표면으로부터 전체 두께의 50% 변형이 일어나도록 2회 반복 압착하여, 경도(hardness), 탄력성(springiness), 응집성(cohesiveness), 검성(gumminess), 부착성(adhesiveness) 및 씹힘성(chewiness)을 측정하였다. 상세한 측정 조건은 Table 1에 나타내었다.

통계분석

모든 실험의 결과는 3회 반복 측정값으로 Mean \pm SD로 표시하였다. 유의성 검증은 SPSS 23.0 (SPSS Inc., Chicago, IL USA)를 이용하여 ANOVA분석 후 Duncan's multiple range test를 실시하였다. 각 실험값 사이의 유의적인 차이는 $p < 0.05$ 수준에서 검증하였다.

결과 및 고찰

콜라겐 추출 및 함량

토종 닭발 추출물의 조단백질 함량은 15.5 g/100 g이었으며, 콜라겐의 함량은 13.9 g/100 g로 나타났다. Lee (2006)의 따르면 일반 육계 닭발에서는 7.03 g/100 g의 단백질이 함유되어 있으며 콜라겐 함량은 6.21 g/100 g로 보고하였는데, 이와 비교하면 토종 닭발의 단백질과 콜라겐 함량이 일반 육계에 비해 높게 나타났다. 이러한 연구결과는 토종 닭발이 육계 닭발에 비해 단백질과 콜라겐 함량이 많이 함유해 있다는 이전 보고와 일치하는 결과이다(Choe 등, 2010). 또한 추출 방법에 차이가 있지만 토종 닭의

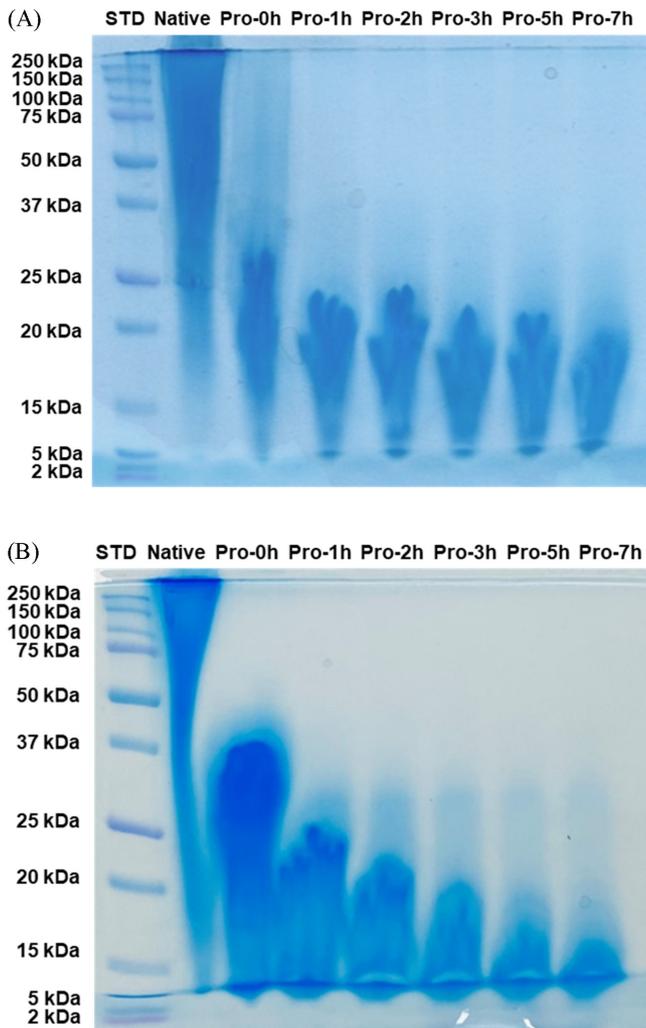


Fig. 1. SDS-PAGE pattern of chicken feet collagen treated with Protamex: (A) 0.1% Protamex treatment, (B) 1% Protamex treatment.

조단백질과 조회분 함량도 같이 높게 함유되어 있다고 보고되었다(Choe 등, 2010). Lee 등(2018)에 따르면 토종 닭은 육계에 비해 더 어둡고 붉은 육색을 띄어 낮은 지방 함량과 높은 단백질 함량을 보유하고 있다고 하였다. 이는 토종 닭의 본연의 성분이 일반 육계보다 높아, 콜라겐 원료를 얻는데 좋은 소재로 볼 수 있다.

효소처리 콜라겐의 분해 pattern 및 분자량 분포

효소처리 콜라겐의 분해 pattern은 Fig. 1에 나타내었다. 단백질 분해효소 Protamex를 시료량 대비 0.1%와 1% (w/w)의 수준으로 첨가하였으며, 0시간(Pro-0 h), 1시간(Pro-1 h), 2시간(Pro-2 h), 3시간(Pro-3 h), 5시간(Pro-5 h), 7시간(Pro-7 h) 효소반응을 하였다. Native 콜라겐은 25,000-250,000 Da으로 고분자 형태를 가지고 있으나, 0.1%와 1%로 효소처리 했을 때 0.1% Pro-0 h, Pro-1 h, Pro-2 h, Pro-3 h, Pro-5 h, Pro-7 h에서 5,000-250,000 Da 범위의 분자량을 보였으며, 1% Pro-0 h, Pro-1 h, Pro-2 h, Pro-3 h, Pro-5 h, Pro-7 h 시료는 2,000-37,000 Da 범위로 0.1% 처리구 보다 1% 효소처리가 더 낮은 분자량 범위를 보였다. 0.1% Protamex로 처리한 시료는 20,000 Da 이하의 펩타이드로 분해하기가 어려운 것

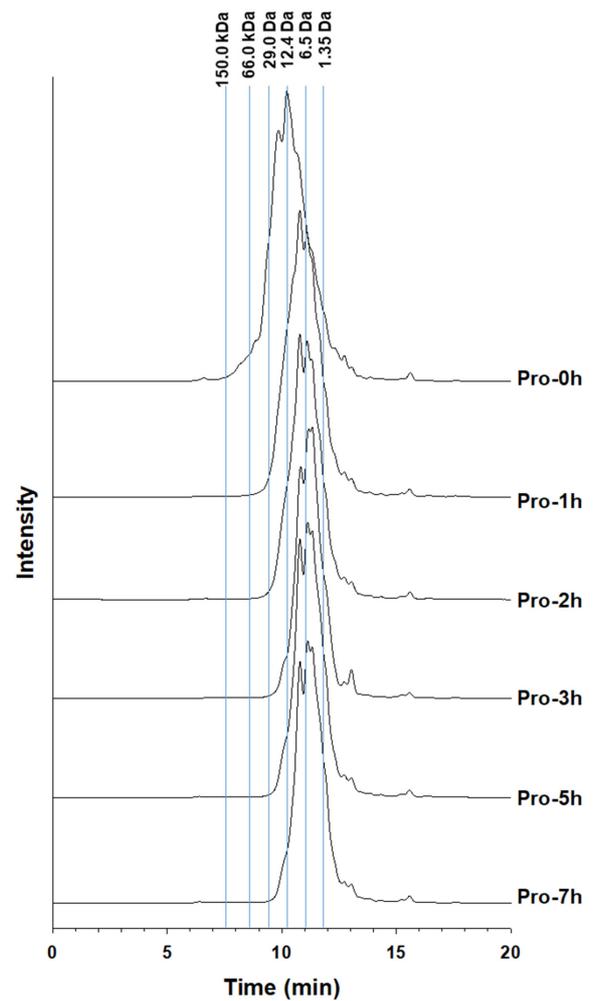


Fig. 2. HPLC molecular weight distribution of chicken feet collagen treated with 1% Protamex.

으로 나타났다. Jeon 등(2016)에 따르면 복합효소를 농도별로 돈 피콜라겐에 처리하였을 때 0.1% 처리구가 37.67 g/100 g이며, 0.5% 처리구는 43.76 g/100 g으로 저분자 펩타이드가 증가한 경향을 보였으며, 효소의 농도가 높을수록 고분자의 펩타이드를 저분자 펩타이드로 분해하는 능력이 좋다고 보고하였다. 이와 같이 1% 농도의 효소처리구가 0.1% 보다 더 낮은 분자량을 형성한 본 연구와 동일한 양상 보였다. SDS-PAGE bands는 Protamex를 1%로 7시간 처리한 Pro-7 h이 2,000-15,000 Da에 많이 분포되어 있다. 이는 효소의 농도가 높고 반응시간이 길수록 저분자량의 콜라겐을 얻을 수 있다는 것이다.

1% Protamex를 처리한 콜라겐의 분자량 분포는 Fig. 2와 Table 2에 나타내었다. 분자량 분포도는 효소처리시간이 길어질수록 저분자량의 분포도 함량이 증가하는 것으로 나타났다. Chen 등(2017)에 따르면 콜라겐은 분자량에 따라 고분자 콜라겐과 저분자 콜라겐으로 나뉘는데 저분자 콜라겐은 일반적으로 분자량 1,500 Da 이하의 것을 말하며, 고분자량은 5,000 Da 이상의 것을 뜻한다. 또한 Yoo 등(2021)에 따르면 콜라겐이 저분자량 일수록 체내 흡수율이 높아진다고 보고하였다. 효소처리시료의 평균 분자량은 Pro-0 h (13,703 Da), Pro-1 h (7,160 Da), Pro-2 h (6,277 Da), Pro-3 h (5,724 Da), Pro-5 h (5,523 Da), Pro-7 h (5,390 Da)으로 효소처리시간이 증가할수록 평균분자량이 낮아지는 것으로 나타났다

Table 2. Molecular weight distribution of chicken feet collagen treated with 1% Protamex

Sample	Amount (% of integration areas ¹⁾)				Average molecular weight (Da)
	<1 kDa	1-5 kDa	5-10 kDa	10-700 kDa	
Pro-0h	0.99	18.8	27.4	52.9	13,703
Pro-1h	1.70	39.3	36.9	22.1	7,160
Pro-2h	1.77	42.9	40.0	15.4	6,277
Pro-3h	2.04	47.8	39.6	10.5	5,724
Pro-5h	2.14	51.9	38.5	7.44	5,523
Pro-7h	2.21	53.4	37.9	6.46	5,390

¹⁾The amount of each molecular weight fraction was calculated as a percentage of the integration area with respect to the total peak area under the chromatogram.

Table 3. Hunter's color values of chicken feet collagen treated with 1% Protamex

Sample ¹⁾	Hunter's color value			
	L	a	b	ΔE
Native	42.8±0.07 ^f	-1.79±0.00 ^{cd}	-1.46±0.02 ^a	42.9±0.07 ^f
Pro-0h	32.3±0.54 ^e	-1.69±0.25 ^d	8.13±0.25 ^f	33.3±0.57 ^e
Pro-1h	26.1±0.11 ^d	-2.14±0.23 ^a	4.35±0.23 ^e	26.5±0.08 ^d
Pro-2h	24.8±0.20 ^c	-2.06±0.04 ^{ab}	3.36±0.04 ^d	25.1±0.20 ^c
Pro-3h	23.2±0.52 ^b	-2.15±0.09 ^a	2.68±0.09 ^c	23.5±0.50 ^b
Pro-5h	22.7±0.48 ^b	-2.02±0.07 ^{ab}	2.36±0.07 ^c	22.9±0.49 ^b
Pro-7h	20.7±0.14 ^a	-1.91±0.40 ^{bc}	1.65±0.40 ^b	20.8±0.15 ^a

¹⁾The values with different superscripts within a column are significantly different ($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

(Table 2). 저분자량에 속하는 1,500 Da의 1,000-5,000 Da 함량은 효소처리 시간이 길수록 Pro-0 h (18.8%), Pro-1 h (39.3%), Pro-2 h (42.9%), Pro-3 h (47.8%), Pro-5 h (51.9%), Pro-7 h (53.4%)로 증가하였다. 1,000 Da 이하의 저분자량 함량은 Pro-0 h (0.99%)에 비해 Pro-7 h (2.21%)로 증가하였으나, 10,000-700,000 Da의 고분자량 함량은 Pro-0 h (52.9%), Pro-1 h (22.1%), Pro-2 h (15.4%), Pro-3 h (10.5%), Pro-5 h (7.44%), Pro-7 h (6.46%)로 감소하였다. Khiari 등(2014)에 따르면 24시간 가수분해 후 얻은 콜라겐은 고분자량의 감소가 관찰되어, 본 실험과 유사한 결과를 나타냈다. 이는 효소의 반응시간이 길수록 고분자가 저분자 펩타이드로 분해되어 고분자량은 감소되고 저분자량의 콜라겐 함량을 증가시켰기 때문이다.

효소처리 콜라겐의 색도

1% Protamex 효소처리 콜라겐의 색도는 Table 3와 같다. 명도(L값, lightness)는 Native 42.8, Pro-0 h 32.3, Pro-1 h 26.1, Pro-2 h 24.8, Pro-3 h 23.2, Pro-5 h 22.7, Pro-7 h 20.7으로 나타났다. 이는 효소처리시간이 길어질수록 명도가 낮아지는 음의 상관관계가 나타났다($p<0.01$, $r=-0.865$). Kim과 Hong (2009)에 따르면 단백질에 oligopeptide를 첨가한 실험군이 대조구에 비해 명도가 낮아졌다고 보고하였다. 이는 백색에 가까운 콜라겐이 분해되어 불투명 형태로 변화되기 때문에 명도가 낮아진 것으로 보여진다. 적색도(a값, redness)는 효소처리시료(-1.69- -2.15)가 Native (-1.79)보다 낮게 나타났으며, 효소반응 5시간까지 감소하다 유지되는 것으로(-1.91- -2.02) 나타났다. 황색도(b값, yellowness)는 Native -1.46로 나타났으며, 효소를 넣은 대조구(Pro-0 h)는 8.13로 나타

났다. 이는 효소의 색이 갈색으로 효소 첨가가 황색도를 증가시킨 것이다. 반면에 효소처리시간이 증가할수록 황색도는 유의적으로 감소하는 음의 상관관계가 나타났다($p<0.01$, $r=-0.823$). Marson 등(2019)에 따르면 Protamex를 처리한 시료의 색이 갈색으로 변화하였으며, 이는 펩타이드 또는 저분자화합물이 이온적으로 더 큰 멜라노이드인 구조에 연계되기 쉬운 형태라고 보고하였다. 색도차(ΔE)는 효소처리시간이 증가할수록 감소하는 것으로 나타났으며, 효소처리 5시간 이후부터는 색의 변화가 미미한 것으로 보인다. 단백질 분자량 변화와 색도차는 양의 상관관계가 나타났다($p<0.01$, $r=0.960$). 따라서 단백질의 분자량은 시료의 색 변화에 중요한 영향을 미치는 것으로 보인다.

효소처리 콜라겐의 조직감

1% Protamex 효소처리 콜라겐의 조직감은 Table 4에 나타내었다. Native 콜라겐의 조직감은 hardness 75.5 N, gumminess 4.795 N, adhesiveness -60.6 J, chewiness 0.1888 N·mm, cohesiveness 0.07, springiness 0.04로 나타났다. 반면에 1% Protamex를 처리한 실험군에서는 hardness 0.12-0.29 N, springiness 0.48-0.50, cohesiveness 0.14-0.23, chewiness 0.028-0.046 N·mm, adhesiveness -0.03 J- -1.51 J로, 효소반응에 의해서 gel 상태의 콜라겐이 sol 상태로 변형된 것으로 나타났다. 효소처리시간에 따른 경도 변화는 유의적 차이가 없는 것으로 나타났다($p>0.05$). Maximo와 Cunha (2010)에 따르면 콜라겐은 아미노산 사슬이 결합되어 삼중나선구조 형성을 담당하며, 분자내 수소결합에 의해 안정화 된다고 보고하였다. 단백질 가수분해 효소 Protamex를 콜라겐에 반응시켰을 때, 콜라겐의 고분자 펩타이드가 저분자 펩타이드로 분해되어 아미노산

Table 4. Textural profiles of chicken feet collagen treated with 1% Protamex

Sample ¹⁾	Hardness (N)	Springiness	Cohesiveness	Chewiness (N·mm)	Gumminess (N)	Adhesiveness (J)
Native	75.5±726 ^b	0.04±0.00 ^a	0.07±0.00 ^a	0.188±0.035 ^b	4.795±0.543 ^b	-60.6±1.00 ^a
Pro-0h	0.29±0.01 ^a	0.49±0.01 ^{bcd}	0.16±0.01 ^c	0.022±0.000 ^a	0.046±0.000 ^a	-1.51±0.04 ^b
Pro-1h	0.27±0.03 ^a	0.48±0.01 ^b	0.14±0.02 ^b	0.019±0.004 ^a	0.038±0.007 ^a	-1.32±0.08 ^{bc}
Pro-2h	0.19±0.01 ^a	0.48±0.01 ^b	0.19±0.02 ^d	0.015±0.001 ^a	0.031±0.000 ^a	-0.56±0.05 ^{cd}
Pro-3h	0.16±0.00 ^a	0.48±0.01 ^{bc}	0.19±0.00 ^d	0.015±0.001 ^a	0.031±0.002 ^a	-0.44±0.06 ^d
Pro-5h	0.15±0.02 ^a	0.50±0.00 ^d	0.20±0.00 ^d	0.015±0.002 ^a	0.031±0.004 ^a	-0.32±0.03 ^d
Pro-7h	0.12±0.01 ^a	0.50±0.00 ^{cd}	0.23±0.01 ^e	0.014±0.001 ^a	0.028±0.002 ^a	-0.03±0.02 ^d

¹⁾The values with different superscripts within a column are significantly different ($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

삼중나선구조를 파괴시켜 gel 형성을 억제하고 sol 상태로 유지시킨 것으로 보인다. 따라서 효소처리가 콜라겐 조직감에 많은 영향을 미치는 것으로 나타났다.

요 약

본 연구에서는 단백질 가수분해효소 0.1%와 1% Protamex를 사용하여 저분자 콜라겐을 제조하였다. 토종 닭발의 조단백질과 콜라겐의 함량은 일반 육계에 비해 높은 함량이 나타났다. 단백질 가수분해 효소농도와 반응시간이 증가할수록 낮은 분자량의 콜라겐을 얻을 수 있는 것으로 나타났다. 특히 1% Protamex로 7시간 처리한 시료가 1,000-5,000 Da의 저분자 콜라겐 함량이 55.6%로 나타났으며, 평균 분자량은 5,390 Da로 가장 낮은 분자량이 나타났다. 이는 단백질 가수분해효소 Protamex가 고분자 펩타이드 결합을 저분자 펩타이드로 분해했기 때문이다. 효소처리 콜라겐의 조직감은 고분자 펩타이드의 콜라겐이 저분자 펩타이드로 분해되어 gel을 형성하지 못하고 sol의 형태를 유지하였다. 효소농도와 효소반응시간이 증가할수록 콜라겐의 평균분자량은 작아지나 효소반응 5시간부터 평균분자량의 감소가 미미해지는 경향이 나타났다. 따라서 저분자 콜라겐 효소반응시간은 경제적으로 볼 때 5시간에서 7시간 사이가 적합하다고 할 수 있다. 이 연구 결과는 향후 산업적 효소를 이용한 저분자 콜라겐 제조 및 식품소재 활용의 기초자료로 이용할 수 있을 것이다.

감사의 글

본 결과물은 전북바이오융합산업진흥원의 전북형 미래혁신식품 기술개발사업의 지원을 받아 연구되었음.

References

AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC Intl. 20th ed. Method 928.08. Association of Official Analytical Chemists, Rockville, MD, USA (2016)

Chen XL, Peng M, Li J, Tang BL, Shao X, Zhao F, Liu C, Zhang XY, Li PY, Shi M, Zhang YZ, Song XY. Preparation and functional evaluation of collagen oligopeptide-rich hydrolysate from fish skin with the serine collagenolytic protease from *Pseudoalteromonas* sp. SM9913. *Sci. Rep.* 7: 15716 (2017)

Choe JH, Kam KC, Jung S, Kim BN, Yun HJ, Jo CR. Differences in the quality characteristics between commercial Korean native chickens and broilers. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.* 30: 13-19 (2010)

Dhawal D, Koomsap P, Lamichhane A, Sadiq MB, Anal AK. Optimi-

zation of collagen extraction from chicken feet by papain hydrolysis and synthesis of chicken feet collagen based biopolymeric fibres. *Food Biosci.* 23: 23-30 (2018)

Edwards CA, O'Brien WD. Modified assay for determination of hydroxyproline in a tissue hydrolyzate. *Clin. Chim. Acta.* 104: 161-167 (1980)

Hashim P, Ridzwan MSM, Bakar J. Isolation and characterization of collagen from chicken feet. *Int. J. Biol. Biomol. Agric. Food Biotechnol. Eng.* 8: 147-151 (2014)

Jayathilakan K, Sultana K, Radhakrishna K, Bawa AS. Utilization of byproducts and waste materials from meat, poultry and fish processing industries: A review. *J. Food Sci. Technol.* 49: 278-293 (2012)

Jeon KH, Hwang YS, Kim YB, Choi YS, Kim BM, Kim DW, Jang AR, Choi JY. Quality characteristics of pork skin collagen with enzyme treatments. *Korean J. Food Nutr.* 29: 760-766 (2016)

Khiri Z, Ndagifimana M, Betti M. Low molecular weight bioactive peptides derived from the enzymatic hydrolysis of collagen after isoelectric solubilization/precipitation process of turkey by-products. *Poultry Sci.* 93: 2347-2362 (2014)

Kim DW, Baek TS, Kim TJ, Choi SK, Lee DW. Moisturizing effect of jellyfish collagen extract. *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea* 42: 153-162 (2016)

Kim JH, Hong SK. Manufacturing suitability and quality characteristics of porridge containing added oligopeptides from pork meat and isolated soybean protein. *Korean J. Food. Nutr.* 22: 633-638 (2009)

Kim JW, Kim DK, Kim MA, Kim SD. Extraction and bleaching of acid- and pepsin-soluble collagens from shark skin and muscle. *Korean J. Food Preserv.* 17: 91-99 (2010)

Kim HS, Seong JH, Lee YG, Xie CL, Choi WS, Kim SH, Yoon HD. Effect of low-molecular-weight collagen peptide extract isolated from scales of the flathead mullet (*Mugil cephalus*) on lipid metabolism in hyperlipidemic rats. *Korean J. Food Preserv.* 16: 938-945 (2009)

Kolar K. Colorimetric determination of hydroxyproline as measure of collagen content in meat and meat products: NMKL collaborative study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 73: 54-57 (1990)

Koopman R, Crombach N, Gijsen AP, Walrand S, Fauquant J, Kies AK, Lemosquet S, Saris WH, Boirie Y, van Loon LJ. Ingestion of a protein hydrolysate is accompanied by an accelerated in vivo digestion and absorption rate when compared with its intact protein. *Am. J. Clin. Nutr.* 90: 106-115 (2009)

Kwon MC, Kim CH, Kim HS, Syed AQ, Hwang BY, Lee HY. Anti-wrinkle activity of low molecular weight peptides derived from the collagen isolated from *Asterias amurensis*. *Korean J. Food. Sci. Technol.* 39: 625-629 (2007)

Laemmli UK. Cleavage of structural protein during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685 (1970)

Lee KK. Physico-chemical properties of chicken feet collagen extracted by enzymatic methodology. MS thesis, Seoul National University of Technology, Seoul, Korea (2006)

Lee SY, Park JY, Hyun SM, Sung S, Jo C, Nam KC. Comparative analysis of meat quality traits of new strains of native chickens

- for Samgyetang. Korean J. Poult. Sci. 45: 175-182 (2018)
- Lee SY, Park JY, Nam KC. Comparison of micronutrients and flavor compounds in breast meat of native chicken strains and *Baeksemi* for *Samgyetang*. Korean J. Poult. Sci. 46: 255-262 (2019)
- Lim JY, Shin WS, Lee HG, Kim KO. Optimizing extraction conditions for chicken feet gelatin. Korean J. Food. Sci. Technol. 34: 824-829 (2002)
- Lugo JP, Saiyed ZM, Lau FC, Molina JP, Pakdaman MN, Shamie AN, Udani JK. Undenatured type II collagen (UC-II®) for joint support: a randomized, double-blind, placebo-controlled study in healthy volunteers. J. Int. Soc. Sports Nutr. 10: 48 (2013)
- Marson GV, Castro RJS, Machado MTDC, Zandonadi FS, Barros HDFQ, Júnior MRM, Hubinger ASMD. Proteolytic enzymes positively modulated the physicochemical and antioxidant properties of spent yeast protein hydrolysates. Process Biochem. 91: 34-45 (2019)
- Maximo GJ, Cunha RL. Mechanical properties of collagen fiber and powder gels. J. Texture Stud. 41: 842-862 (2010)
- MFDS. Ministry of Food and Drug Safety. Food and Drug Industry Trend Statistics (2020)
- Park MN, Hong EC, Kang BS, Kim HK, Seo BY, Choo HJ, Na SH, Seo OS, Han JY, Hwangbo J. The study on production and performance of crossbred Korean native chickens (KNC). Korean J. Poult. Sci. 37: 347-354 (2010)
- Shin MH, Kim JG, Kang KO. A study on the characteristics of salad dressings containing chicken foot gelatin. J. East Asian Soc. Dietary Life 18: 58-63 (2008)
- Sohn SH, Choi ES, Cho EJ, Kim BG, S KB, Lee SG, Oh KS. Cross-breeding combination test for the production of new synthetic Korean native commercial chickens. Korean J. Poult. Sci. 48: 101-110 (2021)
- Yang SJ, Hong JH. Physicochemical properties and biological activities of collagens with different molecular weights from alaska pollack (*Theragra chalcogramma*) skin. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 43: 1535-1542 (2014)
- Yoo HJ, Kim DH, Park SJ, Cho K. Analysis of low molecular weight collagen by gel permeation chromatography. Mass Spectrom. Lett. 12: 81-84 (2021)
- Yoon JY, Choi SY, Jeong HS, Park YI, Kim DS, Joo NM. A comparative study on quality and physicochemical characteristics of segmental bone Korean beef broth. Korean J. Food Nutr. 28: 470-477 (2015)
- Zhao X, Zhang X, Liu D. Collagen peptides and the related synthetic peptides: A review on improving skin health. J. Funct. Foods 86: 104680 (2021)