

## Ficin 처리시 우육의 단백질 분해에 관한 연구

### IV. 광학 현미경에 의한 관찰

김 정숙 · 주 순재

\*안양 공업 전문 대학 식품영양과

(1988. 10. 26 수리)

Studies on the Digestion of Beef by Ficin Treatment :  
IV. An Optical Microscopic Observation

Jung-Sook Kim, Soon-Jae Chu

\*Department of Food and Nutrition,

An-Yang Technical Junior College

(Received October. 16, 1988)

### ABSTRACT

The morphological changes of fresh beef treated with ficin(0.1% : 2hrs, 6hrs) were examined with optical microscope (OM, LM), the results obtained were as follows :

Connective tissue protein in fresh beef treated with ficin was occurred swelling and separation of endomysial reticulum with time, followed showing granulation and solubilization slightly.

Myofibrillar protein was loosed wavy contractile muscle fiber, and showed erosin, cracks and breaks in fibers with time.

### I. 서론

식용육에 대한 소비자의 기호성은 연도(tender ness)가 주된 관심사로서 현재 bromeline, ficin, papain, rhizome 등과 같은 식물성 단백질 분해효소와 비생물에서 추출한 단백질 분해효소가 미국이나 일본에서 연육제라는 이름으로 주로 쓰여지고 있다.<sup>1~3)</sup>

특히 우리나라에선 오랫동안 농경에 종사 시킨 노폐우를 도살하여 식용 우육으로 공급하는 경우가 많았으므로 다른 종류의 축육보다 우육 연화의 필요성을 느껴왔고 따라서 1970년부터는 보건사

회부령으로 천연물질에서 추출한 효소를 첨가 하는것이 허용되어 왔다.

한편, 우리 민족이 언제부터 쇠고기를 먹었다는 것은 확실치 않으나 아마도 原三國시대가 아닌가 하며 漢代의 「禮記」에 실린 도珍이란 조리법에는 나진고기를 혜·鹽로 조화시켜 연하게 만들어 먹었다는 기록이 있다.<sup>4)</sup> 조선시대에 간행된 「增補山林經濟」에 육류를 구울때 술·초를 섞어서 연도 및 풍미를 높이는 방법이 소개 되어 있으며 현재 일반 가정에서도 불고기를 만들때 설탕, 배즙, 생강즙 등을 넣어 조리하는 것을 쉽게 볼 수 있다.<sup>5,6)</sup>

육류의 연화 메카니즘은 균점유 단백질과 결체

조직 단백질인 collagen의 물리적, 생화학적인 구조와 특성에 관련된 문제로 육류의 표면에 있는 근형 질막을 파괴해서 actomyosin을 가수분해시켜 근섬유로 나누어지게 하며 결체조직의 섬유상 단백질에도 작용하여 collagen이나 elastin을 분해 시킨다.<sup>7~9)</sup>

Ficin은 무화과수(*Ficus carica L.*)의 latex에서 얻어지는 것으로 papain과 같은 sulfhydryl enzyme이며 Walti에 의해 1938년 처음으로 결정화 되었고<sup>10,11)</sup> 옛날부터 연육효소로서 뿐만 아니라 소화 촉진제로서 사용되어 왔으며 근래에는 건강식으로도 각광을 받고 있다.

따라서 본 연구에서는 ficin에 의한 우육의 단백질 분해 정도를 검토하고자 생육에 ficin을 처리한 후 광학현미경(optical microscope)을 사용하여 그 조직 변화를 관찰하였다.<sup>8,9,12~21)</sup>

## II. 실험 재료 및 방법

### 1. 재료

#### (1) 단백질 분해효소

본 실험에서는 단백질 분해효소로서 crude ficin (0.08 unit/mg, 日本和光純薬製)을 사용하였다.

#### (2) 생육의 시료

소(흑모화종성자, 4세)를 도살하여 12~15시간 경과된 것으로서 round muscle을 원료육으로 하였다.

### 2. 실험 방법

#### (1) 시료조제

원료육을 근섬유에 대해 직각이 되도록 예리한 칼로서 0.5×0.5×0.5cm로 절단한 후 0.1% 효소액을

Material <sup>1</sup>				
Fixation <sup>2</sup> (10% buffered neutral formaline(pH7.4) for 2hrs.)				
Washing <sup>3</sup> (water wash for 1hr.)				
Dehydration <sup>4</sup>	Embedding <sup>5</sup>	Microtoming <sup>6</sup>	Deparaffin <sup>7</sup>	Staining <sup>8</sup>
70%alcohol	alcohol : xylol (1 : 1)	microtoming (sliced to 5 of thickness)	xylol I (2hrs.)	stainng
80%alcohol	xylol : paraffin (7 : 3)	slide adhesion	xylol II (1hrs.)	mounting
90%alcohol	xylol : paraffin (5 : 5)	(alcohol- egg albumin- glycerin mix- ture 1 : 1, in hot plate at 60°C)	absolute alcohol(1hr.)	entellan and cover the drop
95%alcohol	xylol : paraffin (3 : 7)	90%alcohol		cover
absolute- alcohol I	paraffin(at 60°C- (each 12hrs.)	80%alcohol		glass)
absolute- alcohol II (each 2hr.)	embedding (put into the metal tray which make a block)	70%alcohol (1hr.)	distilled water (1hr.)	permanent preparad

Fig. 1 Procedure of permanent preparad.

가하여 35°C에서 각각 2시간, 6시간을 반응시켜 광학현미경(Optical Microscope: OM 혹은 LM, Olympus BH)을 사용하여 그 형태를 관찰하였다.

한편 section의 종류는 longitudinal, cross 및 oblique 세 가지를 실험에 사용하였다.

#### (2) 표본제작

효소처리한 우육의 표본 제작은 Fig.1과 같이 행하였다.

#### (3) 염색방법

염색은 schiff시약과 light green시약으로 Mcmanus<sup>15)</sup>을 이용하여 실시하였고 사용된 시약은 Merck제품이었다.

### III. 결과 및 고찰

우육의 단백질 분해 정도를 보고자 광학현미경을 사용하여 그 형태를 관찰하였다.

Fig. 2~9는 염색에 의한 것이고 Fig. 10~14는 light green 염색에 의한 사진으로 Fig. 2~4는 oblique section을 한 것이고, Fig. 5~7, 10~12는 longitudinal section한 것이다.

근섬유는 Fig. 2~9에서와 같이 적색으로 염색되고, Fig. 10~14에서는 녹색으로 염색되었으며, 50~150개의 근섬유가 모여 근속을 형성하며 이것은 다시 내근주막에 둘러쌓여 있다.

Fig. 2,5,10은 대조구로서 근육이 경직된 상태인 rigor node와 심한 wavy fiber를 나타내었다.

0.1%ficin을 2시간 처리한 것이 Fig. 3,6,11로 근섬유가 파상으로 수축되었던 것이 많이 풀려져 있으며 뭉쳐진 근속이 조금씩 갈라지기 시작하였다. Fig. 4,12에서는 근섬유의 침식현상이 보이고 Fig. 9,14는 근섬유 내막이 분리되어 있고 팽윤되어 있으며 결체조직의 小片化와 아울러 젤라틴으로의 용해현상이 일어났다.

Fig. 4,7,12는 0.1%ficin을 6시간 처리한 경우이며 단백질이 분해된 근섬유가 흩어지거나 군데군데 금이가고 끊어진 곳도 보인다.

이와같이 광학현미경을 이용한 형태학적 관찰

에서 효소처리 후 시간의 경과에 따라 collagenous fiber와 근원섬유가 세분화 되고 작은 조각으로 갈라졌으며 이것은 우육에 leukocyte lysosomal hydrolase를 처리한 Cho,<sup>20)</sup>papain을 처리한 윤<sup>10)</sup>의 실험결과와도 일치한다. 또 고기를 가열 하므로서 생기는 조직 변화를 형태학적으로 관찰한 여러 보고와도 일치한다.<sup>8,9,16~21)</sup>

특히 우육에 여러가지 효소를 작용 시켰을 때 ficin이 우육의 조직 붕괴에 가장 우수하다는 Wang<sup>8,9)</sup>는 본 실험 결과를 뒷받침해 주며, 효소 처리 시간의 경과에 따라 근육의 구성단백질이 분해되고 있어 생육에 효소 처리시 아미노산 및 질소화합물의 증가<sup>22)</sup>와 더불어 근육 단백질의 분해 현상을 더욱 분명히 하였으며 아울러 고기의 연도를 증진 시킬 수 있음을 확신케 하였다.

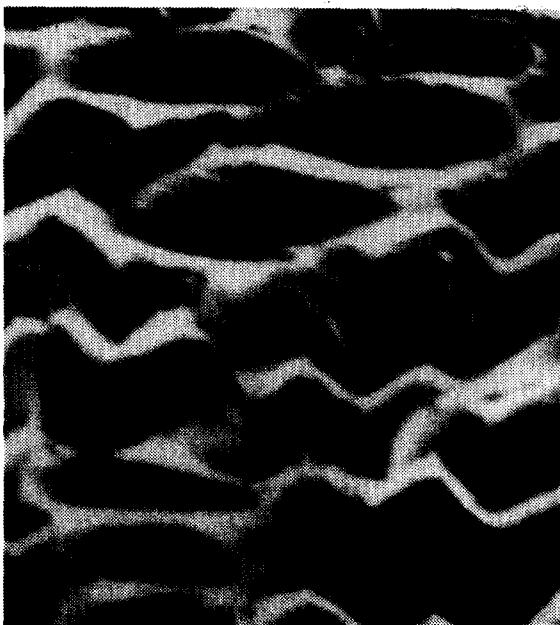


Fig.2 OM micrograph of oblique section of the  
▲ bovine round muscle without enzyme  
treatemt.(X100)

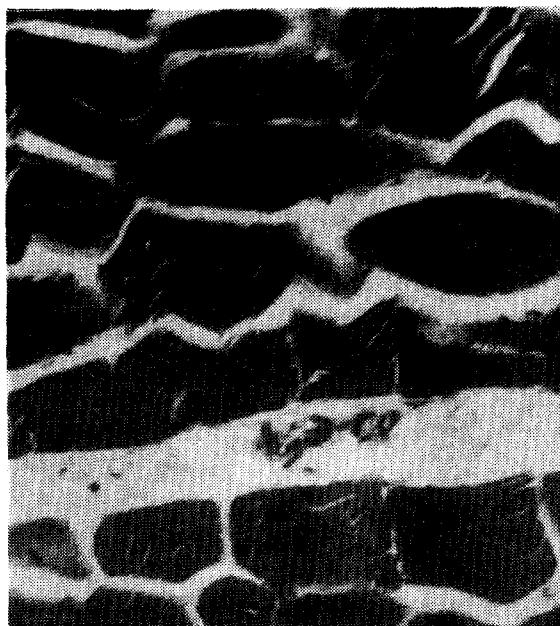


Fig.3 OM micrograph of oblique  
◀ section of the bovine round  
muscle treated with 0.1%  
fycin for 2hrs.(X100)

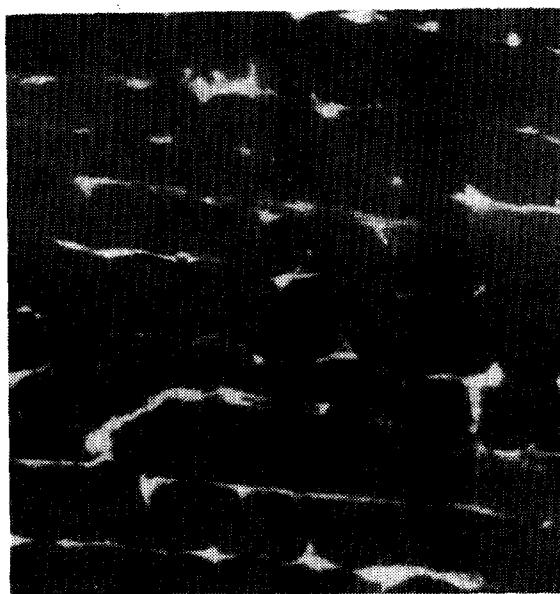


Fig.5 OM micrograph of longitudinal  
▲ section of the bovine  
round muscle treated without enzyme  
treatment.(X100)



Fig.4 OM micrograph of oblique  
▲ section of the bovine round  
muscle treated with 0.1%  
fycin for 6hrs.(X100)

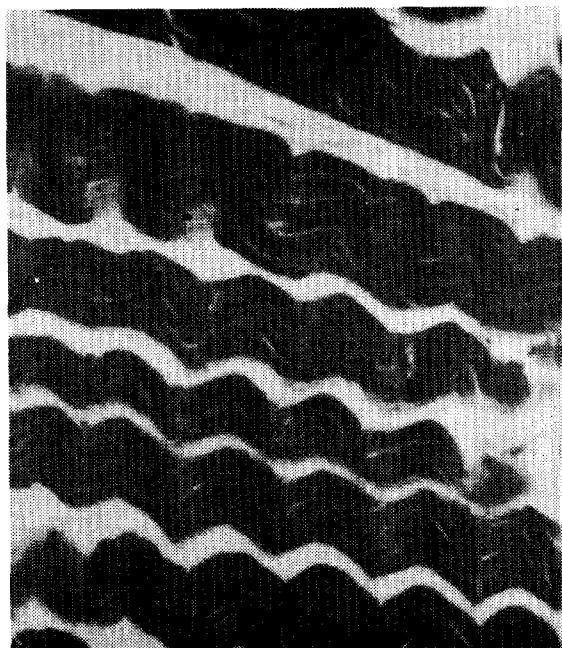


Fig.6 OM micrograph of longitudinal  
▲ section of the bovine round  
muscle treated with 0.1%  
ficin for 2hrs.(X100)

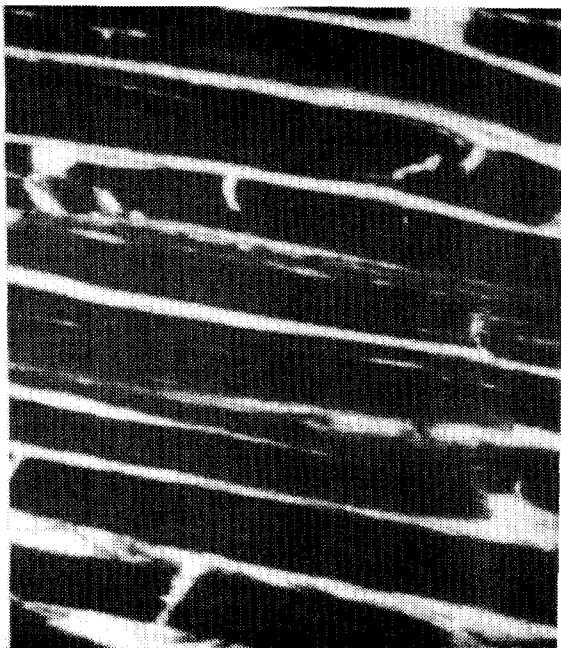


Fig.7 OM micrograph of longitudinal  
▲ section of the bovine  
round muscle treated with 0.1%  
ficin for 6 hrs.(X100)



Fig.8 OM micrograph of cross section of the bovine round muscle treated with 0.1%  
ficin for 2hrs. (X40) Endomysium (E), Perimysium (P),  
Blood vessel (V), Muscle fiber (M), Myofibril (MF).

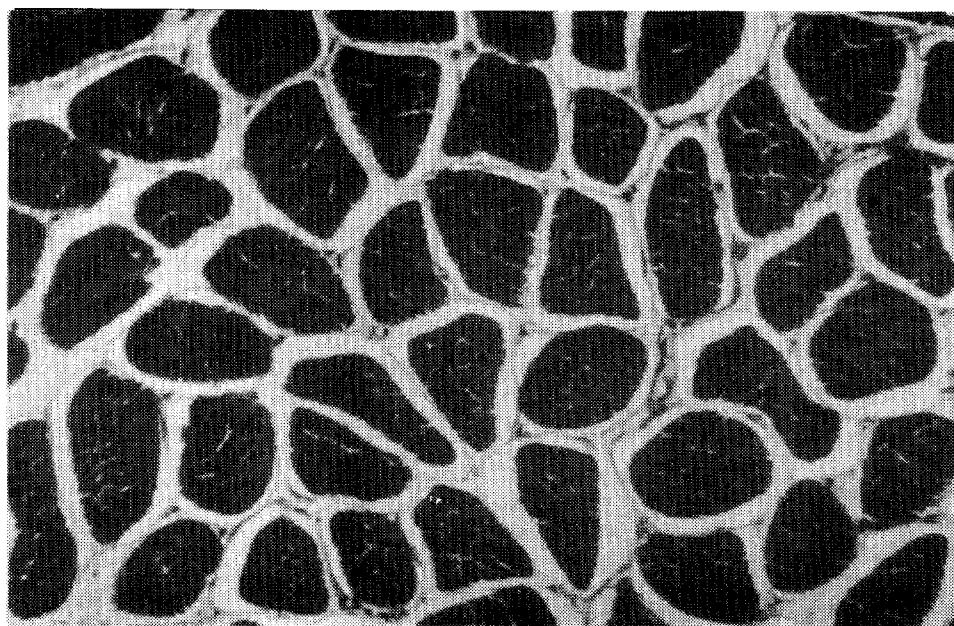


Fig.9 OM micrograph of cross section of the bovine round muscle treated with 0.1% ficin for 2hrs. (X100)

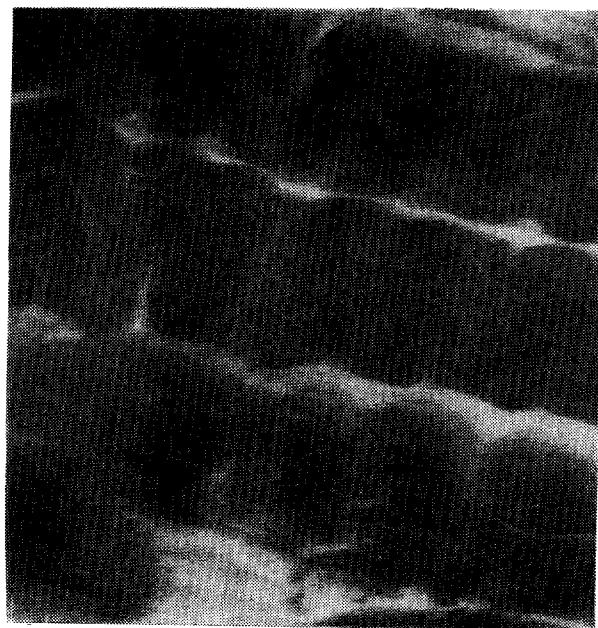


Fig.10 OM micrograph of longitudinal  
▲ section of the bovine round  
muscle treated without  
enzyme treatment.(X200)

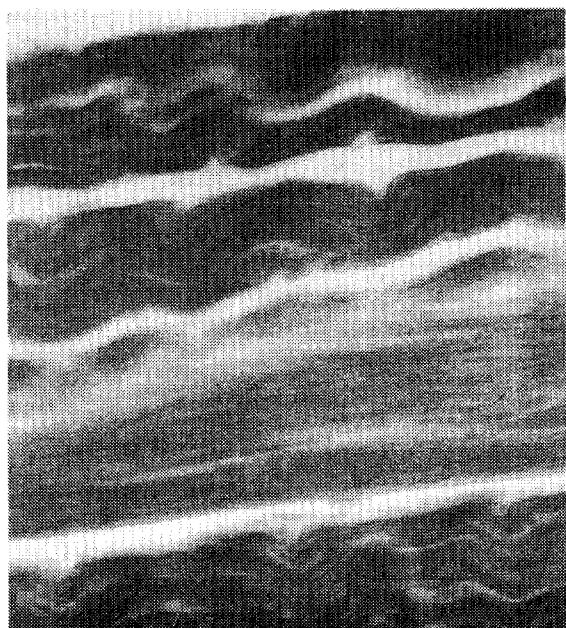


Fig.11 OM micrograph of longitudinal

▲ section of the bovine round  
muscle treated with 0.1%  
fisin for 2hrs.(X200)

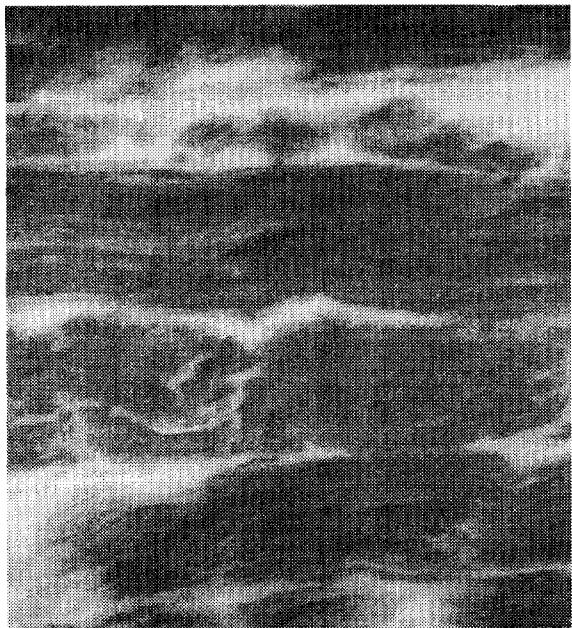


Fig.12 OM micrograph of longitudinal

▲ section of the bovine round  
muscle treated with 0.1%  
fisin for 6hrs.(X200)

Fig.13 OM micrograph of cross section of the bovine round muscle treated with 0.1%  
fisin for 2hrs. (X40)

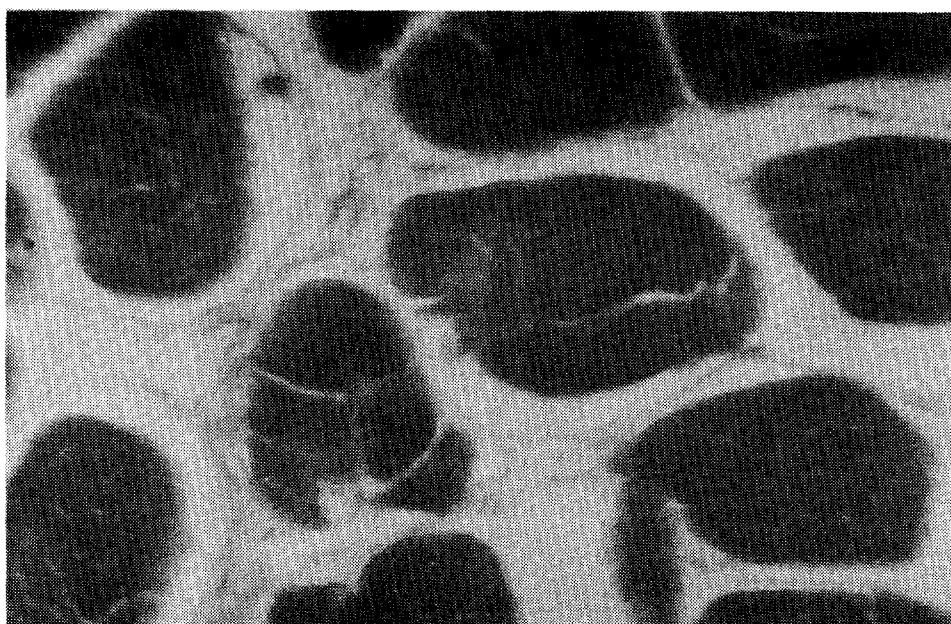


Fig.14 OM micrograph of cross section of the bovine round muscle treated with 0.1% ficin for 2hrs. (X200)

## 요 약

Ficin처리시 생육의 조직변화를 광학 현미경으로 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

결체조직 단백질은 시간의 경과에 따라 근내막이 팽윤되어 분리되고 과립화와 용해현상이 조금씩 일어났다.

근원섬유 단백질은 파상의 수축된 근섬유가 풀어지면서 erosion(침식현상)을 보이고 근섬유가 조금씩 끊어지거나 부서져 있다.

## 참 고 문 헌

1. J.C.Forrest, E.D.Aberle and H.B.Hedrick ; *Principles of meat science*. W.H.Freeman Co., San Francisco(1975).
2. A.M.Cambell, M.P.Penfield and R.M.Griswold ; *The Experimental Study of Food*. Mifflin Co., Boston(1979).
3. 妻鹿至子, 三橋富子, 蔚木澄子, 荒川信彦 ; 家政學雜誌, 34(2), 79-82(1983).
4. 이성우 ; 고려 이전의 한국 식생활사 연구, 향문사(1978).
5. 윤서식 ; 한국음식 역사와 조리, 수학사(1980)
6. 이성우 ; 한국식경대전, 향문사(1981).
7. G.Mier, V.J.Rhodes and L.G.Maharg ; *Food Technol.*, 16, 111(1962).
8. H.Wang, C.E.Weir and M.L.Biktner ; *Food Res.*, 23, 423(1958).
9. H.Wang ; *Exp. Cell Res.*, 11, 452463.(1956)
10. 윤정의 ; 한국식품과학회지, 9(4), 457(1977)
11. 杉浦衛, 佐佐木正憲 ; 藥學雜誌, 91(4), 457 (1971)
12. J.B.Smallling, J.D.Kemp and J.P.Fox ; *J.Animal Sci.*, 32, 1107(1971)
13. 조무재 ; 한국생화회지, 15(1), 13(1963)
14. 日本電子顯微鏡學會編 ; 電子顯微鏡 生物試料作製法, 丸善株式會社(1975)

15. 市川収；食品組織學，光生館(1975)
16. C.S.Cheng and F.C.Parrish : *J.J.Food Sci.*, **41**, 1449(1976)
17. F.Y.Wu, T.R.Dutson and S.B.Smith ; *Food Sci.*, **50**, 1041(1985)
18. S.B.Jones, R.J.Carroll and J.R.Cavanaugh ; *J. Food Sci.*, **42**, 125(1977)
19. C.W.Hutton, Y.H.Neggers and T.O.Love ; *J. Food Sci.*, **46**, 1309(1981)
20. 조무제, 윤한대 ; 한국식품과학회지, **14**(1), (1982)
21. L.E.Hearne, M.P.Penfield and G.E.Goertz ; *J. Food Sci.*, **43**, 13(1978)
22. 김정숙, 김준평 ; 한국 농화학회지, **30**(3), (1987)