

# 한국산 고등균류에 관한 연구(제 6보) 능이버섯 중 단백분해효소의 제제화에 관한 연구

양재현<sup>†</sup> · 은재순 · 허정덕

전주우석대학 약학과

(1989년 12월 1일 접수)

## Studies on Higher Fungi in Korea (VI)

### Studies on Proteolytic Enzyme Preparation Using *Sarcodon aspratus* Extract

Jae Heon Yang<sup>†</sup>, Jae Soon Eun and Jung Duk Her

Department of Pharmacy, Jeonju Woosuk University, Jeonju 565-800, Korea

(Received December 1, 1989)

A proteolytic enzyme was extracted from *Sarcodon aspratus* (Berk) S. Ito by percolation method. Proteolytic activity of the extracted proteolytic enzyme (SAP) was compared with several digestives containing proteolytic enzymes. Potency of SAP was higher than that of the other digestives except for protease. The optimum pH range of SAP was similar to that of pancreatin and protease. SAP was more stable than pancreatin and protease under various temperature, alkaline pH, and metal ions. Bovine serum albumin hydrolysing activity of SAP was equivalent to that of pancreatin and protease in small intestine of rats. SAP demonstrated lower adsorption to antacids than pancreatin and protease. Among the mixtures of SAP and several antacids, magnesium oxide-SAP showed the highest proteolytic activity.

**Keywords**—*Sarcodon aspratus* (Berk) S. Ito, extract, pancreatin, protease, proteolytic activity, stability, intestinal hydrolysis and absorption, antacids

능이버섯(*Sarcodon aspratus* (Berk) S. Ito)은 한국 및 일본에 자생하는 식용버섯으로서 민간에서는 약용으로도 사용되어 왔다.

일반적으로 식용버섯은 단백질, 지방 및 무기질 등의 영양분이 풍부한 것으로 알려져 있으며 최근에는 버섯에 의한 항콜레스테롤 효과,<sup>1,2)</sup> 항암 효과<sup>3,4)</sup>와 함께 효소에 대한 연구가 활발해지고 있다.

Keishi 등<sup>5)</sup>은 「고등균류의 셀룰로오스 분해효소에 관한 연구」에서 대부분의 식용버섯에서 셀룰로오스 분해효소가 존재함을 확인하였고 Ezmat 등<sup>6)</sup>

은 「식용버섯 중 아밀라제 생성에 관한 연구」에서 포고버섯을 위시한 5종의 식용버섯에서 아밀라제 효과가 있음을 보고하였으며 Yamasaki 등<sup>7)</sup>은 포고버섯에서  $\beta$ -glucosidase와 glucamylase를 분리 정제한 후 그 성질을 연구하였다.

Lee<sup>8)</sup>는 능이버섯 중에 다량의 단백질 가수분해 효소가 함유되어 있음을 밝혀내었으며 Eun 등<sup>9)</sup>은 능이버섯 중에 함유된 단백소화활성이 다른 수종의 식용버섯에 비하여 월등하게 강하고 그 특성은 alkaline protease임을 확인하였다.

Park<sup>10)</sup>은 능이버섯에서 효소분획을 추출한 후

<sup>†</sup>본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

카제인 등 수증 식품 단백질에 대한 분해실험을 시행한 결과 여러 기질에 대해 표준 펩신과 거의 동일한 역가를 나타내었다고 보고하였다.

저자는 능이버섯 중에 다량 함유되어 있는 단백질 분해효소의 소화효소제로서의 개발 가능성을 검토하고자 용매추출실험을 실시하였고, 현재 단백질 소화제의 원료로 사용되고 있는 판크레아틴 및 프로테아제와 그 역가를 비교하였으며 최적 pH 실험, 안정성 비교실험, 소장 내 가수분해 및 흡수 비교실험, 제산제 배합실험, 위산에 대한 안정도 실험을 시행하였다.

## 실험방법

### 재료 및 기기

본 실험에 사용된 능이버섯은 1988년 9월 전북 진안군에서 채취된 것을 통풍건조시킨 후  $-20^{\circ}\text{C}$ 에서 냉동보관하여 사용하였다.

판크레아틴, 프로테아제, 유제 카제인, 소혈청 알부민, 티로신 및 폴린시약 등은 Sigma Co. (Japan) 제품을 사용하였고 소화효소제 4종은 시장에서 구입하여 사용하였다.

기기로는 흡광도측정기(Shimadzu UV-250, Japan) 및 동결건조기(Labconco Co. U.S.A) 등을 사용하였다.

### 능이버섯엑스의 제조

능이버섯 건조품 200g을 세절하여 추출용매 200ml를 넣어 3시간 동안 습윤시키고 퍼콜레이터에 충전하여 침출용매 800ml를 넣어  $18^{\circ}\text{C}$  이하에서 3일간 방치한 다음 침출액을 분당 1~2ml씩 유출시켜 얻은 침출액을 모아 3일간 동결건조(10 mmHg,  $-66^{\circ}\text{C}$ )시켜 엑스 48.4g을 얻었다(수율 24.2%).

침출용매는 증류수, 50% 메탄올 및 50% 에탄올 수용액을 각각 사용하여 엑스를 만든 후 그 역가를 비교하였다.

### 단백소화력시험

능이버섯엑스의 단백질소화력시험은 폴리비색법<sup>11)</sup>으로 행하였다. 기질로는 유제 카제인 1.5% 용액(pH 7.0)을 사용하였고 검액은 1:4000 희석액을 사용하였다.

먼저 유제 카제인용액 1ml와 검액 1ml를  $37\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 에서 20분간 반응시킨 후 0.4M 트리클로로초산용액 2ml를 가하여 여과하고 여액 1ml를 취한 다음 0.4M 탄산나트륨 5ml 및 폴린용액(1→3) 1ml를 가하여  $37\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 에서 15분간 방치시킨 후 물을 대조로 하여 파장 660nm에서 그 흡광도를 측정하였다. 따로 공시험의 흡광도를 측정하여 보정하였다.

역가산출은 티로신 검량선을 작성한 다음 검체를 유제 카제인용액에 적용시킬 때  $1\mu\text{g}$ 의 티로신에 해당하는 비단백성의 폴린시액 정색물질을 생성하는 효소력을 1단위로 하였다.

### 능이버섯엑스와 시판 단백질분해효소 및 제제간의 역가비교 실험

능이버섯엑스(이하 SAP로 약함)가 단백질 소화제 원료로서의 사용가능성을 검토하기 위하여 현재 의약품 원료로 사용되고 있는 판크레아틴(이하 PAN으로 약함) 및 프로테아제(이하 PRO로 약함)와 시중에 판매되고 있는 제품 4종을 구입하여 그 역가를 비교하였다. 기질로서는 유제 카제인을 비롯하여 소혈청 알부민, beef 및 porcine을 사용하였다.

### pH에 따른 단백질소화력 시험

SAP의 적용 pH 범위를 PAN 및 PRO와 비교하기 위하여 pH 2.5, 5.0, 7.0, ..., 12.0의 여러 완충액을 사용하여 카제인용액과 검액을 반응시킨 후 단백질소화력을 비교 관찰하였다.

### 안정성 비교시험

SAP, PAN 및 PRO의 안정성을 여러 조건에서 비교하기 위하여 온도, pH 및 금속이온이 이들 단백질분해효소의 안정성에 미치는 영향을 검토하였다.

열안정성 시험은 각 검액을 40, 50 및  $60^{\circ}\text{C}$ 에서 일정 시간 방치한 후 잔존하는 단백질분해효소의 역가를 측정하였다. pH에 따른 안정성은 각 시료를 lactate 완충액(pH 3.0), 인산염 완충액(pH 7.0) 및 암모니아 완충액(11.0) 등으로 용해한 후  $40^{\circ}\text{C}$ 에서 일정 시간 방치시킨 후 잔존하는 단백질분해효소의 역가를 측정하였다. 금속이온에 대한 안정성은  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{3+}$ ,  $\text{Ag}^{+}$  등의 금속이온을 0.01 mol로 제조하여

그 1 ml 씩을 검액 1 ml 와 40°C에서 일정 시간 반응시킨 후 잔존하는 단백분해효소의 역가를 측정하였다.

#### 소장 내 가수분해 및 흡수실험

SAP, PAN 및 PRO 의 랫트 소장 내 가수분해율 및 흡수율을 비교하기 위하여 Doluisio<sup>12)</sup>의 소장흡수 실험법을 응용하였다.

먼저 랫트에 펜토바르비탈나트륨용액을 복강 내 주사(40 mg/kg)하여 마취시키고 복부를 절개하여 소장을 노출시킨 후 십이지장 말단부위와 회장 말단부위를 천공하여 L형 canula 를 삽입시키고 생리식염수로 소장내부를 세정하고 나서 공기로서 생리식염수를 제거한 다음 십이지장 부위의 canula 를 통하여 0.5% 소혈청 알부민용액 10 ml 와 0.1% 시료용액을 주입하고 일정기간 방치시킨 후 회장부위의 canula 를 통하여 반응액 1 ml 씩을 취하여 생성된 아미노산의 양과 잔존 단백질량을 측정하였다.

잔존 단백질량의 측정은 Lowry 등<sup>11)</sup>의 방법을 응용하였는데 반응액 0.1 ml 를 취하여 증류수 0.9 ml 를 넣고 alkaline copper reagent 5 ml 를 가하여 37°C에서 10분간 방치한 후 폴린시액 1 ml 를 가하여 37°C에서 30분간 방치시킨 다음 파장 750 nm 에서 그 흡광도를 측정하였다.

생성된 아미노산은 반응액 0.5 ml 를 취하고 0.4 M 트리클로로초산 2 ml 를 넣어 37°C에서 10분 동안 반응시키고 여과한 후 여액 1 ml 를 취하여 이하 잔존 단백질량 측정법과 동일하게 조작한 다음 파장 750 nm 에서 그 흡광도를 측정하였다.

흡수된 아미노산량은 잔존단백질량과 생성된 아미노산량에 의거하여 산출하였다.

#### 제산제의 존재시 SAP 및 단백분해효소류의 역가 시험

SAP, PAN 및 PRO 와 제산제의 공존시의 흡착현상을 관찰하였다. 제산제로서는 일반적으로 널리 쓰이는 제품 중 수산화알루미늄, 규산알루미늄, 산화마그네슘, 탄산마그네슘, 탄산칼슘 및 탄산수소나트륨 등 6종을 사용하였다. 검액 1 ml 에 제산제 100 mg 및 증류수 2 ml 를 가하고 일정 시간 방치 후 단백분해효소의 잔존역가를 측정하였

**Table I**—Comparison of Proteolytic Activity of *Sarcodon asparatus* Extracts Prepared with Different Extraction Vehicles.

Vehicle	Abs	Activity (unit)
Powder	0.412	44,702
Water	1.487	161,393
50% Methanol	1.407	113,653
50% Ethanol	0.082	8,950

다.

#### 위산에 대한 SAP 및 단백분해효소류의 안정도 시험

SAP, PAN 및 PRO 의 위산에 대한 안정도를 인공위액을 사용하여 비교 관찰하였다. 제산제를 함유하는 시료용액에 인공위액을 1 ml 씩 적가하면서 단백분해효소의 역가를 측정하였다.

#### 실험결과

##### 엑스제의 제조

능이버섯은 분말 자체가 높은 단백분해효소를 함유하고 있으나 분말화 과정의 난점 등으로 인하여 엑스제제로 하여 원료화를 시도하였다. 단백분해효소가 고온에서는 불안정한 것으로 나타났으므로 추출법은 실온에서 퍼콜레이슨법을 이용하였는데 침출액은 가온조작 대신 냉동건조법을 사용하였다.

침출용매 중 물엑스는 161,393단위로서 버섯 분말에 비하여 4배 정도 높은 역가를 나타내었으며 50% 메탄올엑스도 113,653단위로서 비교적 높은 역가를 유지하였으나 50% 에탄올엑스는 8,950단위로서 매우 낮게 나타났다(Table I).

##### SAP 와 시판 단백소화효소류와의 역가비교

SAP 의 역가를 시판 원료인 PAN 및 PRO 와 비교한 결과 PAN 의 역가가 117,375단위인 반면 SAP 가 161,393단위로서 훨씬 높은 역가를 나타냄으로서 원료로서의 사용가능성이 인정되었다. 그러나 PRO 의 280,646단위보다는 훨씬 낮게 나타났다며 시중 제품 중 가장 역가가 높은 것이

**Table II—Comparison of Proteolytic Activity of *Sarcodon Aspratus* Extract with Pancreatin and Other Digestives.**

Class	Abs	Activity (unit)
SAP	1.487	161,393/g
PAN	1.081	117,375/g
PRO	2.586	280,646/g
PF	0.064	6,947/tab.
FF	0.376	40,817/tab.
BT	0.056	6,176/tab.
BZ	0.169	1,397/cap.

SAP: *sarcodon aspratus* extract. PAN: pancreatin. PRO: protease. PF, FF, BT and BZ are commercial digestives

**Table III—Comparison of Proteolytic Activity of SAP, PAN and PRO for Two proteins and Food Containing Proteins.**

Substrate	Proteolytic enzyme		
	SAP	PAN	PRO
BSA	60,347	23,826	22,266
Milk casein	161,393	117,375	280,646
Beef	6,640	2,343	42,966
Forcine	6,444	2,245	31,248

BSA: bovine serum albumin. For other abbreviations, refer to Table II.

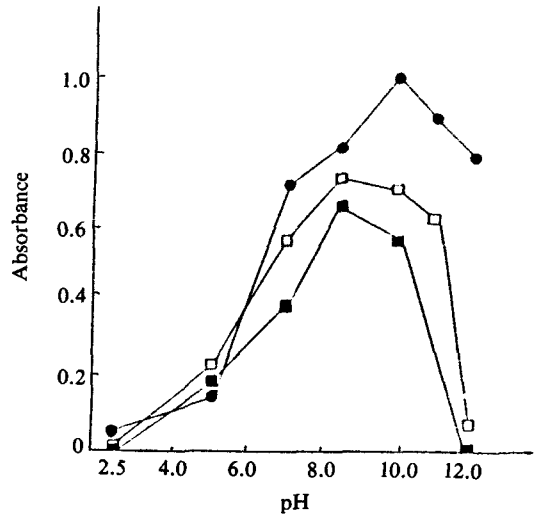
40,817단위로 나타냈다 (Table II).

기질로서 소혈청 알부민을 사용한 것은 SAP가 60,347단위로서 PAN의 23,826단위보다 약 3배 정도 높은 역가를 보여 주었는데 이 현상은 beef 및 porcine을 직접 기질로서 사용하였을 때에도 동일한 결과가 나타났다 (Table III).

#### SAP와 시판 단백질소화소류 간의 최적 pH 비교

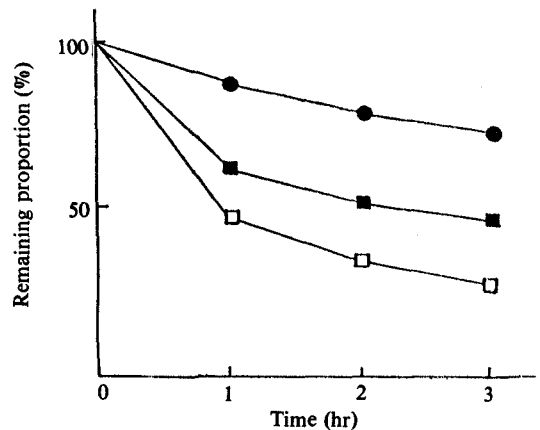
PAN의 최적 pH는 8.5~10.0까지로 나타났으며 PRO는 8.0~10.5로서 PAN보다는 약간 넓은 pH 범위를 보여 주었고 SAP는 pH 7.0~12.0까지 높은 역가를 유지함으로써 중성에서 약 알칼리성까지 광범위하게 적용할 수 있는 가능성을 보여 주었다 (Fig.1).

#### 안정성 비교



**Figure 1—Comparison of proteolytic activity of SAP with PAN and PRO at various pHs.**

Key: ●, SAP; ■, PAN; □, PRO

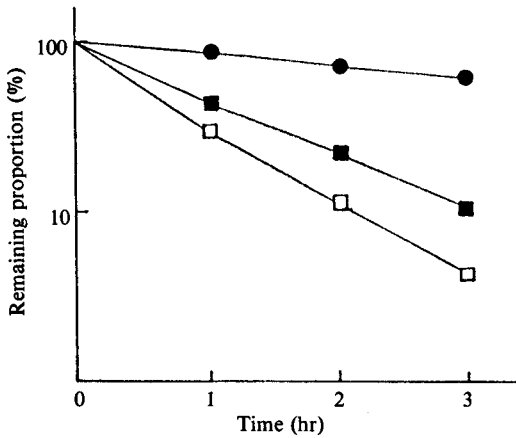


**Figure 2—Comparison of stability of SAP with PAN and PRO at 40°C.**

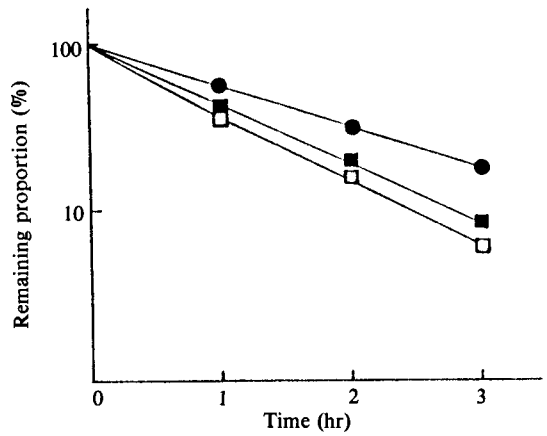
Key: ●, SAP; ■, PAN; □, PRO

SAP, PAN 및 PRO를 수용액으로 하여 40°C에서 3시간 동안 방치한 것은 SAP의 잔존율이 72.7%로 나타났으며 PAN이 47.8%, PRO가 28.5%의 순으로 나타나 SAP가 가장 높은 잔존율을 나타내었다 (Fig.2).

각 시료용액을 50°C로 방치하였을 때는 SAP는 63.2%, PAN은 9.2%, PRO가 4.1%로서 잔존율은 더욱 큰 차이를 보여 주었다. 이 수치를 각 시간별로 반대수 방안에 플롯한 결과 직선성



**Figure 3**—First-order decomposition of proteolytic enzyme of SAP, PAN and PRO at 50°C.  
Key: ●, SAP; ■, PAN; □, PRO



**Figure 4**—First-order decomposition of proteolytic enzyme of SAP, PAN and PRO at pH 3.0.  
Key: ●, SAP; ■, PAN; □, PRO

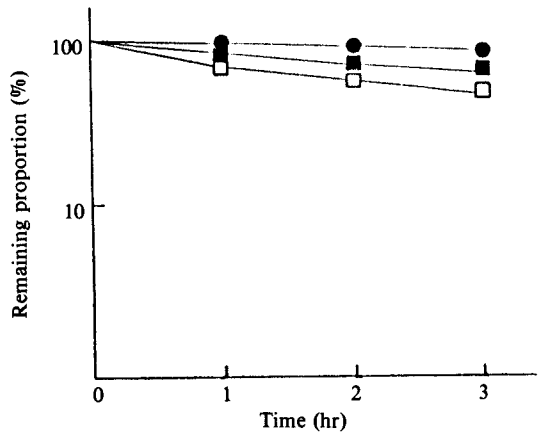
**Table IV**—First-Order Constant ( $k$ ) and Half Life ( $t_{1/2}$ ) of Proteolytic Enzymes of SAP, PAN and PRO under Various Temperatures.

Temp. (°C)	SAP		PAN		PRO	
	$k(\times 10)$	$t_{1/2}(\text{hr})$	$k(\times 10)$	$t_{1/2}(\text{hr})$	$k(\times 10)$	$t_{1/2}(\text{hr})$
40	1.06	6.54	2.46	2.82	4.18	1.66
50	1.52	4.56	7.95	0.87	10.65	0.65
60	11.81	0.58	38.17	0.18	46.06	0.15

을 나타내어 각 시료에 함유된 효소의 분해는 겉보기 1차 반응에 따름을 알 수 있었다(Fig.3).

따라서 1차식에 따라 각 시료의 분해속도정수와 반감기를 산출하였다. 50°C에서의 분해속도정수를 비교해 보면 SAP가  $1.52 \times 10^{-1} \text{ hr}^{-1}$ 이었는데 비하여 PAN이  $7.95 \times 10^{-1} \text{ hr}^{-1}$ , PRO가  $10.65 \times 10^{-1} \text{ hr}^{-1}$ 로 나타났으며 이에 따라 SAP의 반감기가 4.56시간인 반면 PAN은 0.87시간, PRO가 0.65시간으로 SAP가 PAN에 비해 5배, PRO에 비해 7배 이상이었다(Table IV).

산성 영역인 pH 3.0에서 각 시료용액을 40°C에서 방치한 결과 2시간 후의 잔존율은 SAP가 32.2%, PRO가 17.9%, PAN이 16.4%의 순으로 나타나 산성영역에서는 전반적으로 안정성이 떨어졌다(Fig.4). 그러나 pH 7.0에서는 방치 2시간 후의 잔존율이 SAP가 91.4%이었고 PAN이 84.6%, PRO가 77.3%로 산성 영역에 비하여 잔



**Figure 5**—Decomposition of proteolytic enzyme of SAP, PAN and PRO at pH 7.0.  
Key: ●, SAP; ■, PAN; □, PRO

존율이 월등하게 높아졌으며 그 중에서는 SAP가 가장 높았다(Fig.5).

알칼리성인 pH 11.0에서의 분해속도정수는 SAP가  $0.48 \times 10^{-1} \text{ hr}^{-1}$ 이었고 PAN이  $9.10 \times 10^{-1} \text{ hr}^{-1}$ , PRO가  $5.01 \times 10^{-1} \text{ hr}^{-1}$ 으로 나타났는데 이에 따라 그 반감기를 비교해 보면 SAP가 14.43시간이었고 PAN이 0.76시간, PRO가 1.38시간으로서 SAP가 PAN보다 20배, PRO보다 10배 정도의 긴 반감기를 나타내었다(Table V).

금속이온 중  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  및  $\text{Fe}^{3+}$  이온에 대해

**Table V**—First-Order Rate Constant (*k*) and Half Life (*t*<sub>1/2</sub>) of Proteolytic Enzyme of SAP, PAN and PRO under Various pHs.

pH	SAP		PAN		PRO	
	k(×10)	t <sub>1/2</sub> (hr)	k(×10)	t <sub>1/2</sub> (hr)	k(×10)	t <sub>1/2</sub> (hr)
3.0	5.66	1.22	9.04	0.76	8.60	0.80
7.0	0.45	15.40	0.83	8.34	1.28	5.41
11.0	0.48	14.43	9.10	0.76	5.01	1.38

서는 각 시료의 단백분해효소가 비교적 높은 잔존율을 보여 주었으나 Ag<sup>+</sup>, Hg<sup>2+</sup> 및 Co<sup>2+</sup> 이온에 대해서는 매우 불안정한 것으로 나타났다. 특히 황산마그네슘의 존재하에서 SAP의 잔존율은 101.0%로서 역가 감소가 전혀 없었으며 PAN이 93.3%, PRO가 87.5%의 비교적 높은 수치를 나타내었다(Table VI).

**소장 내 가수분해 및 흡수율 비교**

소혈청 알부민을 기질(50 mg)로 하여 각 시료를 랫트의 소장 내에 주입시키고 30분간 방치시킨 후 가수분해율을 측정된 결과 SAP는 잔존 단백질이 0.360±0.046 mg 이었고 생성 아미노산은 0.206±0.052 mg으로 나타나 그 비율은 0.57인데 비하여 PAN은 0.57, PRO가 0.53으로서 별차이가 없었으나, 60분 방치 후에는 SAP가 0.73이었고 PAN이 0.76, PRO가 0.88로서 PRO가 비교적 높은 수치를 보여 주었다(Table VII).

소장 내에서 생성된 아미노산의 흡수율은 SAP에서 잔존 아미노산량이 0.068±0.009 mg인 반면 흡수 아미노산량은 0.167±0.035 mg으로서 생성된 아미노산이 빠른 속도로 흡수됨을 알 수 있었으

**Table VI**—Comparison of Remaining Proportion of Proteolytic of SAP, PAN and PRO in the Presence of Various Metal Ions.

Metal salts	SAP	PAN	PRO
AlCl <sub>3</sub>	95.4	63.7	75.8
MgSO <sub>4</sub>	101.0	93.3	87.9
CuSO <sub>4</sub>	70.8	69.4	78.4
ZnSO <sub>4</sub>	77.2	89.2	58.2
FeSO <sub>4</sub>	102.6	78.6	52.5
HgCl <sub>2</sub>	32.3	0.6	0
Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	78.7	48.0	77.3
Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	40.7	86.1	62.7
AgNO <sub>3</sub>	22.7	76.1	4.73

The concentration of metal salts was constantly 0.01 M.

며, 흡수율은 SAP에서 2.45인 반면 PAN에서는 1.96, PRO에서는 1.89로 나타났다(Table VIII).

SAP의 가수분해율과 소장 내 흡수율이 SAP 및 PRO와 거의 유사한 양상을 보여줌으로서 SAP의 생체 내 이용률이 PAN 및 PRO와 큰 차이를 나타내지는 않을 것으로 생각된다.

**제산제의 존재시 SAP 및 단백분해효소류의 잔존역가**

각 시료 용액에 제산제를 가하여 24시간 방치시킨 후 잔존역가를 측정하였다. 수산화알루미늄에서는 SAP가 91.3%로 나타났고 PAN이 78.9%, PRO가 85.2%로서 비교적 높은 역가를 유지하였다. 그러나 산화마그네슘에서는 SAP가 88.2%의 역가를 나타낸 반면 PAN이 20.2%,

**Table VII**—Hydrolysis of Bovine Serum Albumin by SAP, PAN and PRO in Small Intestine of Rat.

Time (min)	Class	SP	PAN	PRO
30	PT	0.360±0.046	0.384±0.057	0.403±0.037
	TA	0.206±0.052	0.221±0.045	0.216±0.042
	Ratio	0.57	0.57	0.53
60	PT	0.334±0.034	0.331±0.033	0.316±0.042
	TA	0.246±0.030	0.254±0.028	0.281±0.042
	Ratio	0.73	0.76	0.88

PT: protein. TA: total amino acid. The values represent mean ± SD of four rats.

**Table VIII**—Absorption of Hydrolyzed Products of BSA by SAP, PAN and PRO in Small Intestine of Rat.

Time (min)	Class	SP	PAN	PRO
30	RA	0.068 ± 0.018	0.017 ± 0.016	0.119 ± 0.018
	AA	0.140 ± 0.065	0.116 ± 0.010	0.097 ± 0.037
	Ratio	2.05	1.08	0.81
60	RA	0.068 ± 0.009	0.086 ± 0.010	0.097 ± 0.012
	AA	0.167 ± 0.035	0.169 ± 0.033	0.184 ± 0.042
	Ratio	2.45	1.96	1.89

RA: remaining amino acids. AA: absorbed amino acids. The values represent mean ± SD of four rats.

**Table IX**—Comparison of Remaining Proportion of Proteolytic Activity of SAP, PAN and PRO Compounded with Various Antacids after 24 hr.

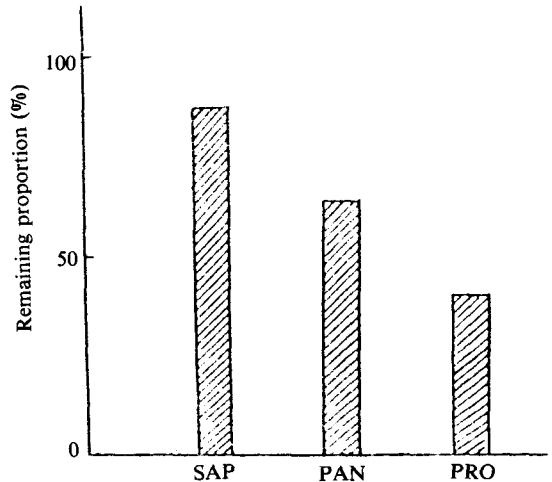
Antacid	SAP	PAN	PRO	pH
Aluminum hydroxide	91.3	78.9	85.2	9.0
Aluminum silicate	77.9	22.6	23.7	6.0
Magnesium oxide	88.2	20.2	27.4	11.0
Magnesium carbonate	92.8	39.4	24.8	10.0
Calcium carbonate	93.4	56.1	57.2	8.0
Sodium bicarbonate	99.7	75.0	86.7	9.0

PRO가 27.4%로 극히 저조한 역가를 보여 주었다.

탄산칼슘에서도 SAP는 93.4%의 역가를 유지한 반면 PAN은 56.1%, PRO는 57.2%로 역가가 떨어졌다. 한편 탄산수소나트륨에서는 SAP가 99.7%로서 거의 역가가 감소되지 않았으며 PAN이 75.0%, PRO가 86.7%로서 역시 비교적 높은 역가를 나타내었다(Table IX).

PAN 및 PRO에서는 제산제의 존재로 pH가 10.0 이상으로 높아지면서 역가가 급격히 떨어졌으나 SAP는 pH 11.0까지 높은 역가를 유지하였다.

제산제에 의한 흡착현상을 관찰하기 위하여 미분쇄된 수산화알루미늄겔과 SAP 및 단백분해효소를 배합하여 30분 방치한 것은 SAP가 88.7%로 나타났고 PAN이 65.0%, PRO가 41.2%로 역가가 감소함으로써 제산제의 입자가 미세화함에 따라 흡착현상이 나타남을 알 수 있었다(Fig.6).

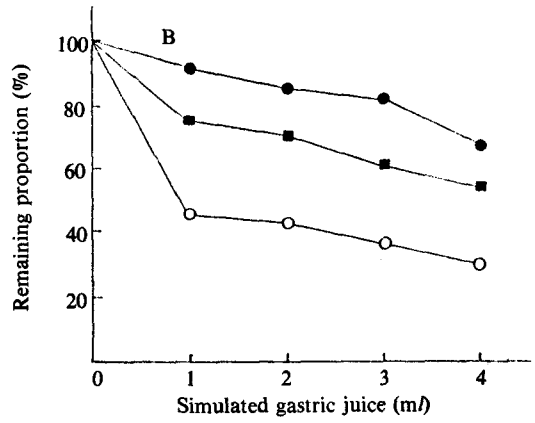
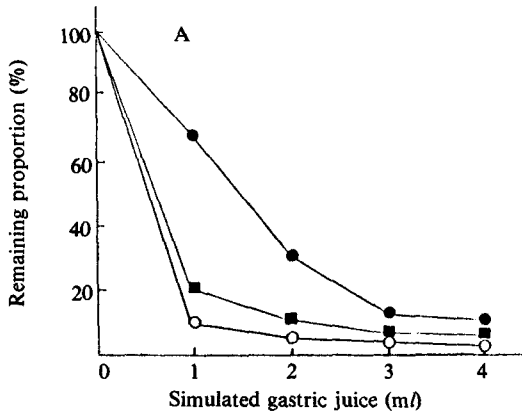


**Figure 6**— Comparison of remaining proteolytic activity of SAP, PAN and PRO compounded with aluminium hydroxide gel. Enzyme activity was determined after the mixture was stored for 30 min.

#### 위산에 대한 안정도

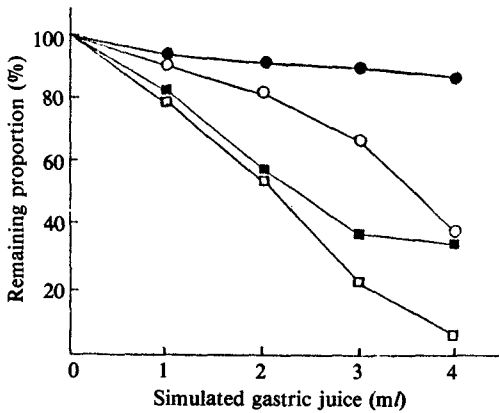
단백소화효소는 위산에 대하여 불안정하여 급격히 그 역가가 감소되므로 각 시료를 제산제와 배합한 후 위산에 대한 안정도를 비교하였다. 각 시료에 규산알루미늄을 배합한 다음 인공위액 2ml를 가하였을 때 SAP가 33.5%의 잔존률을 보여 주었고 PAN이 7.1%, PRO가 13.2%로 나타나 SAP가 비교적 높은 역가를 유지하였으나 전반적으로 위산에 대하여 상당히 불안정한 양상을 보여 주었다(Fig.7A).

한편 제산제로서 탄산마그네슘을 사용한 것은 인공위액 4ml를 가하였을 때 SAP가 72.7%,



**Figure 7**—Effect of simulated gastric juice on the proteolytic activity of SAP, PAN and PRO compounded with aluminum silicate (A) and magnesium carbonate (B).

Key: ●, SAP; ■, PRO; □, PAN



**Figure 8**—Effect of simulated gastric juice on the proteolytic activity of SAP compounded with various antacids.

Key: ●, magnesium oxide; ○, sodium bicarbonate; ■, calcium carbonate; □, aluminum silicate

PAN이 34.0%, PRO가 57.8%의 잔존율을 보여줌으로서 위액에 대한 안정도는 훨씬 상승되어 복합제제의 개발 가능성이 인정되었다(Fig.7B).

또한 SAP에 4종의 제산제를 각각 배합한 후 인공위액 4ml를 가한 것은 산화마그네슘이 87.4%, 탄산수소나트륨은 37.8%, 탄산칼슘은 35.6%, 규산알루미늄에서는 5.7%로서 산화마그네슘과 배합되었을 때 가장 높은 잔존율을 나타내었다. 이로 보아 산화마그네슘 단독 또는 이것과 다른 제산제를 함께 배합시키는 것이 좋을 것으로 생각된다(Fig.8).

## 고 찰

능이버섯은 다른 식용버섯류에 비하여 단백분해효소의 함유량이 월등하게 높은 것으로 나타나 소화 효소제로서 개발 가치성이 인정되나, 한편으로 자가소화되기 쉬우므로 보관 및 추출조작과정에서 특별한 주의가 요망되며 가급적 0°C 이하의 저온 보관 및 냉동건조가 필요한 것으로 생각된다.

Park<sup>10)</sup>은 능이버섯 중에 함유된 단백분해효소의 역할을 표준 펩신과 비교할 때 거의 동일한 역할을 나타내었다고 보고하였으나 저자는 SAP가 alkaline protease임을 감안하여 PAN 및 PRO와 비교실험을 시행하였다.

능이버섯엑스의 g당 역가는 약 16만단위로서 판크레아틴보다 5만단위 정도가 높은 것으로 나타나 제제원료로서의 사용이 가능하다고 볼 수 있다.

기질로서 beef 및 porcine 등을 사용하였을 경우에는 SAP가 PAN에 비하여 3배 정도 높은 역가를 나타냄으로서 육류를 먹고 체하였을 때 민간요법으로 능이버섯을 사용하여 온 점을 입증할 수 있다.

능이버섯엑스가 PAN 및 PRO와 비교할 때 가장 큰 이점은 높은 안정성에 있다고 할 수 있다. 60°C에서 SAP는 PAN에 비하여 3배 이상 반감기가 긴 것으로 나타났고, pH 11.0에서는 SAP가 PAN에 비하여 20배 정도의 긴 반감기를 보여



주었으며, 여러 금속이온 존재하에서도 SAP는 PAN 및 PRO에 비하여 높은 잔존율을 유지하였다.

능이버섯엑스의 소장 내 단백질 가수분해 및 아미노산 흡수율은 PAN 및 PRO와 큰 차이를 나타내지는 않았는데 이는 *in vitro* 실험과는 차이가 있어 좀 더 규명하여야 할 것으로 생각된다.

능이버섯엑스의 최적 pH 범위는 7.0~12.0으로 나타남으로서 PAN 및 PRO보다 넓은 pH 범위에서 높은 역가를 유지하였는데, 특히 알칼리성쪽에서 단백분해효소의 활성이 높게 나타나 제산제와의 복합제제 개발 가능성을 보여 주었다.

SAP는 수중 제산제와의 배합시 PAN 및 PRO에 비하여 높은 단백소화력을 유지하였을 뿐만 아니라, 제산제의 미세입자를 복합하였을 경우에도 흡착력이 가장 낮은 것으로 나타났다.

SAP에 제산제를 배합하여 사용할 경우 마그네슘제제가 가장 높은 역가를 유지하였고 위액에 대한 안정성도 높은 편이었으나 알루미늄 복합제제는 위액에 대한 안정성이 낮았다.

SAP는 단백소화효소제로서 단독 및 복합제제 개발 가능성이 높을 인정되나 가급적 고형제제가 적합한 것으로 사료되며 액상제제의 개발은 좀 더 연구하여야 할 과제이다.

## 결 론

능이버섯 중에 함유된 단백분해효소를 제제화하기 위하여 침출용매, 판크레아틴 및 프로테아제와의 역가 및 최적 pH 비교실험, 안정성 비교실험, 소장 내 가수분해 및 흡수 비교실험, 제산제 배합 실험 및 위산에 대한 안정도 시험을 실시한 결과 아래와 같은 결론을 얻었다.

1. 능이버섯 중 단백분해효소는 퍼콜레이션법에 의하여 용이하게 추출되었으며 침출제로 물이 가장 적합하였다.

2. 능이버섯엑스의 단백소화력은 판크레아틴보다 높게 나타났고 프로테아제보다는 낮았다.

3. 능이버섯효소의 최적 pH 범위는 7.0~11.0까지로서 판크레아틴 및 프로테아제보다는 넓게 나타났다.

4. 능이버섯효소의 온도에 대한 안정성은 판크레아틴 및 프로테아제보다는 월등하게 높았다.

5. 능이버섯효소의 pH에 대한 안정성은 약알칼리성에서 특히 높게 나타났다.

6. 능이버섯효소의 금속이온에 대한 안정성은  $Al^{3+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$  등에서 높았고,  $Ag^+$ ,  $Hg^{2+}$ ,  $Co^{3+}$  등에서는 불안정하였다.

7. 능이버섯효소의 소장 내 가수분해율 및 아미노산 흡수율은 판크레아틴 및 프로테아제와 큰 차이가 없는 것으로 나타났다.

8. 제산제와의 배합시 능이버섯효소는 판크레아틴 및 프로테아제보다 훨씬 높은 역가를 유지하였으며 위산에 대해서도 가장 안정하였다.

9. 능이버섯효소에 제산제를 배합할 경우 산화마그네슘이 가장 높은 효소역가를 유지하였다.

이상의 실험결과 능이버섯엑스는 단백소화효소제로서 제품개발 가치성이 높은 것으로 평가된다.

## 감사의 말씀

이 논문은 1986년도 문교부 대학부설연구소 지원학술연구조성비의 일부로 연구되었으며 이에 감사드리는 바이다.

## 문 헌

- 1) N. Arakawa, K. Enomoto and H. Mukohyama, Effect of basidiomycetes on plasma cholesterol in rats, *Eiyo To Shokuryo*, **30**(1), 29 (1977)
- 2) M. Kimoto, S. Yashizawa and H. Ochi, Effect of Shiitake feeding on the lipid components of plasma and liver of Albino rats, *Eiyo To Shokuryo*, **29**(5), 275 (1976)
- 3) K.S. Chung, E.C. Choi and B.K. Kim, Studies on constituents of the higher fungi of Korea (XII), *Kor. J. Mycol.*, **12**(4), 129 (1984)
- 4) T. Ikekawa, N. Uehara and Y. Maeda, Antitumor activity of aqueous extracts of some edible mushrooms, *Cancer Res.*, **29**, 734 (1969)
- 5) N. Keishi, J. Ikuko and A. Hiroo, Studies on the cellulolytic enzyme in higher fungi, *Mush-*

- room Sci.*, **9**(1), 859 (1974)
- 6) M. Ezmat, E. Ialaki and M.A. Hamza, Edible mushrooms as producers of amylases, *Food Chem.*, **4**(3), 203 (1979)
  - 7) Y. Yamasaki and Y. Suzuki, Purification and properties of  $\beta$ -glucosidase and glucamylase from *Lentinus edodes*, *Agri. Biol. Chem.*, **42**(5), 971 (1978)
  - 8) T.K. Lee, Purification and some characteristics of the proteolytic enzyme in fruit body of Neungee, *J. Kor. Soc. Food Nutr.*, **17**(1), 276 (1986)
  - 9) J.S. Eun, J.H. Yang and D.Y. Cho, Studies on higher fungi in Korea (I), *J. Kor. Pharm. Sci.*, **18**(3), 125 (1988)
  - 10) W.H. Park, Studies on enzymes of the higher fungi of Korea (I), *Kor. J. Mycol.*, **14**(1), 25 (1986)
  - 11) O.H. Lowry, N.J. Rosebrough and A.L. Farr, Protein measurement with the Folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.*, **193**, 265 (1951)
  - 12) J.T. Doluisio, N.F. Billups and L.W. Dittert, Drug absorption-an *in situ* rat gut technique yielding realistic absorption rates, *J. Pharm. Sci.*, **58**(10), 1196 (1969)
  - 13) H.W. Kim, H.K. Min and C.Y. Kang, Studies on the constituents of higher fungi of Korea (XXII), *Kor. J. Mycol.*, **8**(1), 21 (1980)
  - 14) K.S. Chung, Studies on the constituents and culture of the higher fungi of Korea (II), *Kor. J. Mycol.*, **10**(1), 33 (1982)
  - 15) S.Y. Kim, Studies on the acid protease from penicillium SP, *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.*, **1**(2), 93 (1973)
  - 16) I. Chinas and L. Munguia, Proteolytic enzymes from *Cnidocolus chayamansa*, *J. Food. Sci.*, **51**(1), 243 (1986)
  - 17) D.A. Cowan, R.M. Daniel and H.W. Margan, Some observations on the inhibition and activation of a thermophilic protease, *Int. J. Biochem.*, **19**(5), 483 (1987)
  - 18) A. Berstad, Antacids and pepsin, *Scan. J. Gastro. Suppl.*, **17**(75), 13 (1982)
  - 19) C.J. Gara, D.W. Burget and T. Sivakumaran, The effect of temperature and pH on the stability of human pepsin in stored gastric juice, *Scan. J. Gastro.*, **21**(6), 650 (1986)
  - 20) C.M. Dipietro and I.E. Liener, Heat inactivation of the Kunitz and Bowman-Birk soybean protease inhibitors, *J. Agr. Food Chem.*, **37**, 39 (1989)
  - 21) R.M. Daniel, D.A. Cowan and H.W. Morgan, A correlation between protein thermostability and resistance to proteolysis, *Biochem. J.*, **207**, 641 (1982)
  - 22) D.A. Cowan and R.M. Daniel, The properties of immobilized caldolylin, a thermostable protease from an extreme thermophile, *Biotech. Bioeng.*, **24**, 2053 (1982)