

배, 키위, 무화과, 파인애플, 파파야에 존재하는 단백질 분해효소의 특성비교

배영희 · 노정해*

오산대학 식품조리과, *한국식품개발연구원

The Properties of Proteolytic Enzymes in Fruits (Pear, Kiwifruit, Fig, Pineapple and Papaya)

Young-Hee, Bai and Jeong-Hae, Roh*

Dept. of Food and Culinary Arts, Osan College

*Korean Food Research Institute

Abstract

This study was attempted to compare the properties of proteolytic enzymes in fruits(Pear, Kiwifruit, Fig, Pineapple and Papaya) for the application of scientific information to cooking. The results were as follows: 1. The optimum temperature of crude proteolytic enzymes in pear, fig and pineapple is 60°C and it was relatively active in 40-70°C; papaya showed max. activity in 60°C and highly stable activity in 40-80°C, but kiwifruit showed max. activity in 40°C and it maintained to 70°C. 2. The crude proteolytic enzymes of pear, fig, pineapple and papaya showed opt. pH at pH 7.0 and maintained at pH 5.0-8.0, but max. activity of kiwifruit observed in pH 3.0 and pH 5.0-8.0. 3. As a result of comparison of total activities of fruits per kg unit, the order of activities was pineapple > kiwifruit > papaya > fig > pear.

Key words: fruit protease, meat tenderness, pineapple, papaya, fig

1. 서 론

육류는 풍미가 좋아야 함은 물론 보수성이 높고 부드러워야 좋은 품질이라고 할 수 있다. 따라서 식용하기 적당한 연화도를 유지하기 위해 근육의 상태에 따라 여러 가지 연화법을 적절히 이용하여 왔는데 육류의 근섬유를 횡으로 자르거나 다지거나 갈거나 하는 기계적인 방법, 가열 조리시 간장, 소금, 산을 이용하여 단백질의 수화력을 증가시키는 방법, 사후 경직 후 숙성과정을 거치는 방법 또는 식품의 단백질 분해효소를 이용하는 방법 등이 있다¹⁻⁵⁾.

식육의 연화도는 기호성에 영향을 미치는 가장 중요한 요인으로 열대 지방에서는 질긴 고기를 연하게 하기 위해 과육을 육류와 함께 삶거나 잎으로 싸두거나 또는 과즙에 담그거나 과일에 비벼 잎에 싸서 조리하여 연화시키고 있는 것을 볼 수 있는데 식물에서 추출한 식육 연화제인 papain, ficin, bromelin 등의 사용에 관한 연구는 많이 이루어져 왔다^{6,7)}. 이들의 추출원인 파파야, 무화과, 파인애플 외에 배, 생강 등에도 효소가 들어 있어

질긴 고기를 연화시키는⁸⁾ 작용을 한다고 알려져 있다.

근래에는 우리 나라에서 닥나무의 저질자, 뽕나무의 상백피 조직도 연화효과를 나타낼 수 있다는 연구가^{1,2,9)} 발표되었다.

효소의 분해 작용은 조리에 직접 이용될 때 이들 식품내부에 있는 효소가 갖는 활성효소의 농도, pH, 온도, 작용시간, 조리온도에서의 안정성 등에 따라 크게 달라지는데, 실제 조리응용을 위한 식육 연화에 관한 연구는 극히 부족한 실정이며 특히 조리현장에서 사용할 수 있는 과일의 단백질 분해효소들에 대한 연구는 거의 없는 상태였다.

식문화가 발달하여 조리법에 대한 관심이 고조되고 있는 것에 비해 실제 응용되고 있는 육류조리법은 상식적인 수준으로서 이는 조리산업이 한 단계 발전하는데 가장 큰 걸림돌인 과학성의 결여로 인한 것임을 알 수 있다.

그러므로 본 연구에서는 조리현장에서 육류연화에 자주 사용되고 있는 과일들(배, 키위, 무화과, 파인애플, 파파야)이 갖고 있는 단백질 분해효소의 특성을 알아보고

이들이 육류연화에 미치는 상대적인 효과를 알아보고자 했다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

배는 경기도 안성산 신고품종, 키위는 전남 해남산, 무화과는 봉래시(Bongraesi)와 마스이(Masui)품종으로 전남 영광군 삼호면 삼호농협에서 제공받았고, 파인애플은 제주도산, 파파야는 경남 진주산을 이용하였다. 이들은 수확 후 다량 구입하여 -40°C의 냉동고에 저장하면서 실험에 사용하였다.

2. 조효소의 추출

조효소는 손쉽게도 대량 생산이 가능한 방법을 찾아 추출하였다.

시료의 가식부분을 잘게 썰어 2배(w/v)의 0.1 M sodium phosphate buffer(pH 7.0), 5 mM cysteine, 2 mM EDTA를 가하여 균질화한 후 cheese cloth로 2회에 걸쳐 여과하였다.

위의 여과액을 5,500 rpm(10,000×g)에서 20분간 원심 분리한 후 상정액을 추출하였다.

이 상정액을 -40°C에 보관하면서 효소의 특성 및 단백질분해능력을 조사하기 위한 기본 조효소액으로 이용하였다.

3. 단백질분해능력

효소의 활성도 검사는 Kunitz의 방법¹⁰⁾을 이용하였다.

즉 Hammarsten casein을 0.1 M Sodium phosphate buffer(pH 7.0), 5 mM cysteine, 2 mM EDTA에 1% 농도가 되도록 용해하여 90°C에서 15분간 열처리하여

용해한 후 냉각시켜 기질용액으로 하고 사용할 때에는 37°C water bath에서 가온하여 본 실험의 기질로 사용하였다. 시험관에 1% casein 기질 1 ml에 조효소액 2 ml를 가하고 40°C에서 20분간 반응시킨 다음 5% TCA 용액 3 ml를 넣고 실온에서 30분간 방치하여 침전시킨 후 분해되지 않은 단백질은 Whatman No.40 여과지로 여과시킨 후 여액을 280 nm에서 Spectrophotometer를 이용하여 흡광도를 측정하였다.

단백질 정량은 Lowry의 방법¹¹⁾에 따라 540 nm에서 흡광도를 측정하여 bovine-serum albumin을 표준단백질로 사용하여 단백질양을 측정하였다. 효소활성단위는 1분간 1 μM/ml tyrosine을 생성하는 효소의 양을 1 unit으로 하였다.

4. 효소활성에 대한 온도의 영향

시험관에 기질 1 ml와 조효소액 2 ml를 가하고 20~80°C 각각의 온도에서 반응시킨 후 측정된 tyrosine 생성량을 상대효소활성(%)으로 표시하였다.

5. 효소활성에 대한 pH의 영향

시험관에 기질 1 ml와 조효소액 2 ml를 가하고 0.2 M sodium acetate buffer(pH 2~6)와 0.2 M 인산염 완충액(pH 7~9)으로 조절하여 40°C에서 반응시킨 후 측정된 tyrosine 생성량을 상대효소활성(%)으로 표시하였다.

6. 수율 비교

조효소액을 추출한 후 이를 이용하여 casein에 대한 역가를 기준으로 과육 1 kg에서 얻을 수 있는 총 역가를 비교하고 이를 다시 상대적 단백질 분해능력으로 환산하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 효소의 특성

(1) 효소활성에 대한 온도의 영향

배, 무화과, 파인애플이 나타내는 조효소의 활성은 Fig. 2에서 보는 바와 같이 60°C에서 그 활성이 가장 크고 40~70°C에서 비교적 안정하였으며, 파파야는 40~80°C까지 안정하고 60°C에서 최대활성을 보인 반면, 키위의 조효소는 40°C에서 최대의 활성을 보이고 70~80°C의 온도범위까지도 높은 활성을 나타냈다. 이는 Tappel 등이¹²⁾ papain이 조리과정에서 60~80°C일 때 활성이 최대가 된다고 하며, Tsutomu Yamaguchi 등¹³⁾ 최¹⁴⁾가 키위의 효소활동 최적온도가 60°C 천후라고 밝힌 결과와 매우 유사함을 알 수 있다.

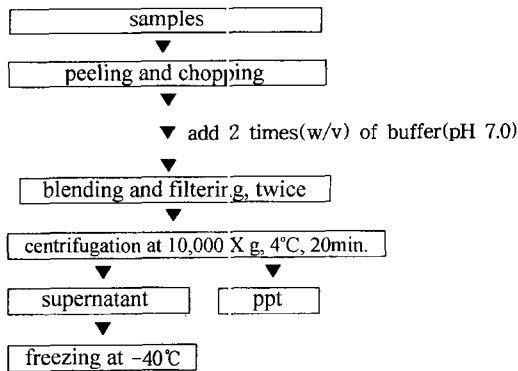


Fig. 1. The procedure for preparation of crude proteolytic enzymes from the various fruits.

또한 서¹⁵⁾등이 파인애플의 과일과 줄기에서 분리한 bromelin의 최대 활성범위는 과일이 70°C, 줄기가 60°C 라고 한 결과와도 매우 일치하고 있음을 알 수 있다. 한편 김^{8,16,17)}등은 무화과에 있는 ficin의 최적 작용온도는 60°C이며, 열에 대한 안정성은 0~55°C 범위라고 하였다. 본 실험의 과일류는 육류 조리시 연육효과가 있다고 알려져 많이 사용되고 있는데 본 실험결과 연육 효과가 발생하는 조건은 열처리가 가해지면서 나타나는 것으로 첨가시기와 온도와의 상관성에 관한 더 많은 연구가 필요함을 알 수 있다.

(2) 효소활성에 대한 pH의 영향

과일에 함유된 단백질 분해효소의 pH를 달리한 역가 실험의 결과는 Fig. 3에 있다. 즉 배, 무화과, 파인애플, 파파야의 경우 pH 5.0~8.0에서 안정하였고, 최적 pH는 pH 7.0으로 관찰되었으며 8.0 이상의 pH에서는 그 활성이 급격히 떨어졌다. 그러나 키위는 최고 활성이 pH 3.0에서 관찰되었으며 이는 pH 4.0에서 급격히 떨어졌다가 다시 증가하여 다른 과일류의 최적 pH인 pH 5.0~8.0의 범위에서 다시 높은 활성을 나타냈다. 김 등⁵⁾에 의하면 무화과에서 분리한 ficin의 최적 pH는 7.0이라고

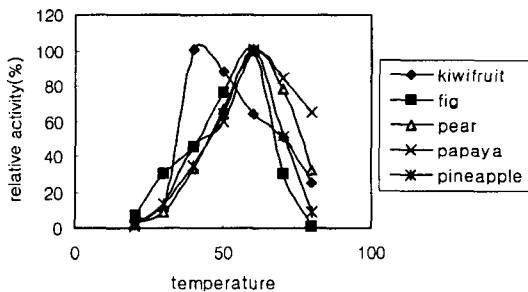


Fig. 2. Optimum temperature of crude proteolytic enzyme from fruits.

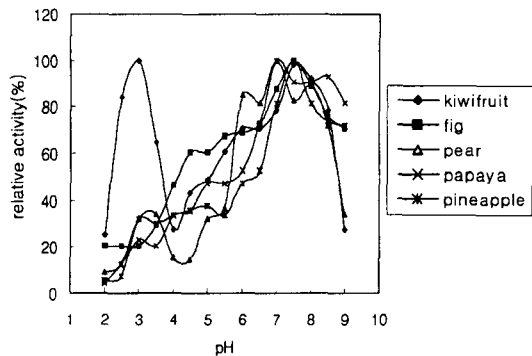


Fig. 3. Optimum pH of crude proteolytic enzyme from fruits.

하였다. 최¹⁴⁾는 키위의 단백질분해효소는 pH 3.0에서만 최대 활성도를 나타내는 peak을 보인다고 했다. 서등¹⁵⁾은 파인애플의 bromelin은 과일에서 추출한 것이 pH 8.0, 줄기에서 추출한 것이 pH 7.0이라고 했다. 한편 윤⁹⁾ 등이 뽕나무에서 추출한 단백질 분해효소의 특성은 배, 무화과, 파인애플, 파파야와 매우 유사한 것을 관찰할 수 있었다.

즉 과일에 함유되어 있는 단백질 분해효소는 키위만 제외하고 모두 중성이거나 약알칼리성에서 높은 활성을 보이고 있음을 알 수 있었다. 그러나 조리조건은 항상 이 같은 최적조건을 만족하는 것이 아니므로 과일을 이용하여 육류를 연화할 때 조미양념이 갖는 pH 조건에 따라서 연육 효과가 달라질 수도 있다.

(3) 과일별 단백질 역가와 분해력

배, 키위, 무화과, 파인애플, 파파야 조효소액의 casein에 대한 역가를 기준으로 과육 1 kg에서 얻을 수 있는 총 역가를 비교한 것이 표 1이다. 즉 이들 과일이 나타내는 단백질 분해능력을 상대 비교해 볼 때 파인애플과 키위가 다른 과일에 비해 월등히 높았으며 이는 육류의 조리시 나타내는 연화효과와 밀접한 관계가 있을 것으로 보이므로 더 연구할 필요가 있다고 사료된다. 또한 각 과일에 함유되어 있는 단백질 분해효소가 갖는 단백질 분해력을 Fig. 4에 표시하였다.

즉 과일에 함유되어 있는 단백질 분해능력은 pineapple

Table 1. Total activity of fruits per 1 kg

	volume (ml)	activity (μM/ml)	total activity(μM/ml) per 1kg fruit
pear		12,816.17	20,505,872
kiwifruit		37,200.00	59,520,000
fig	1600	14,266.70	22,826,720
pineapple		43,000.00	68,800,000
papaya		16,933.00	27,093,280

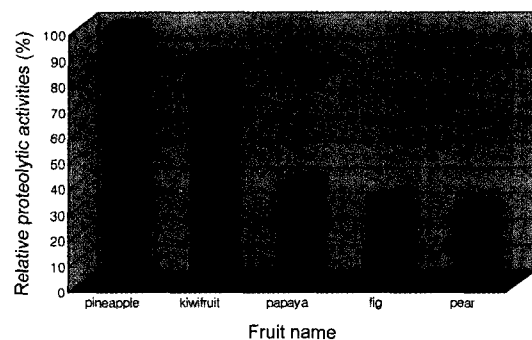


Fig. 4. Relative proteolytic activities of fruits.

>kiwifruit > papaya > fig > pear의 순으로 파인에플이 가장 크게 나타난 반면 바가 상대적으로 매우 적은 단백질 분해능력을 보였다. 이때 배의 경우는 연육효과가 매우 작은 것으로 나타났는데, 이것은 배 자체의 단백질 분해효소에 의한 것이라기 보다는 당분의 영향에 기인하는 것이라고 했다⁸⁾.

이같이 과일에 들어있는 효소능력은 과일마다 차이는 있으나 첨가 양과 첨가조건을 잘 밝힌다면 조리의 효과를 향상시킨다는 점으로 볼 때 매우 바람직하다.

IV. 요약

본 연구에서는 육류연화작용이 있다고 알려진 과일인 배, 키위, 무화과, 파인에플, 파파야에 존재하는 단백질 분해효소의 특성을 상대 비교함으로써 조리에 응용할 수 있는 자료로서 이용하고자 했다. 실험 결과는 다음과 같다.

1. 각 과일에 존재하는 단백질 분해 효소의 최적 온도를 보면 배, 무화과, 파인에플이 60°C에서 최고활성을 나타냈고 40~70°C에서 비교적 높은 활성이 있었고, 파파야는 60°C에서 최대 활성을 보이고 40~80°C 범위에서 넓은 범위에서 높은 활성을 나타냈다. 한편 키위는 40°C에서 최대활성을 보이고 70°C까지 안정된 높은 활성을 보여주었다.

2. 단백질 분해 효소가 나타내는 최적 pH를 비교해 보면, 배, 무화과, 파인에플, 파파야는 최적 pH가 7.0부근이고 pH 5.0~8.0에서 높은 활성을 나타내다가 pH 8.5 이후 급격히 활성이 떨어졌다. 한편 키위는 최고 활성이 pH 3.0에서 관찰되었으며 이는 pH 4.0에서 급격히 감소했다가 다시 증가하여 다른 과일의 활성도와 비슷한 pH 5.0~8.0에서 다시 높은 활성을 나타냈다.

3. 다량 조리시 사용할 수 있는 과육의 단위 부피당 총여가를 비교해 본 결과, pineapple > kiwifruit > papaya > fig > pear로서 나타났다.

감사의 글

본 연구는 1999년 오산대학 교내 학술연구조성비와 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 지원에 의해 수행된 연구결과의 일부로서 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. 윤숙자, 김나영, 장명숙 : 닭나무 열매의 알갱이와 분말첨

가가 장조림의 맛과 연화에 미치는 영향. 한국조리과학회지, 11(4), 1995

2. 윤숙자 : 닭나무 열매가 쇠고기의 연화와 맛에 미치는 영향, 단국대학교 박사학위논문, 1995
3. Tsuji, R. F., Hamono, M., Koshiyama, I. and Fukushima, D. : Conditioning of meat with raw soysauce and its proteinases. Their effects on the quality of beef. *J. Food Sci.*, 52(5), 1987
4. Lynette M. Wenham and Ronald H. Locker : The Effect of Marinading on Beef, *J. Sci. Food. Agric.*, 27, 1976
5. 김준평, 서재신, 김정숙 : 무화과에서 Ficin의 분리 및 정제. 한국식품과학회지, 18, 1986
6. Chunghee K. Kang and Eldon E. Rice : Degradation of various meat fractions by tenderizing enzymes, *J. Food Sci.* 35, 1970
7. Tsutomu Yamaguchi, Yukiko Yamashita, Imao Takeda and Hisashi Kiso: Proteolytic Enzymes in Green Asparagus, Kiwi Fruit and Mint : Occurrence and Partial Characterization, *Agric. Biol. Chem.*, 46(8): 1982
8. 김현옥, 김광수, 김용곤, 이장형, 정숙근 : 식육의 연화에 관한 연구. 축산시험장 연구보고서, 1980
9. 윤숙자, 오성훈, 장명숙 : 뽕나무에서 추출한 단백질 분해효소의 특성, 한국조리과학회지, 13(5): 1997
10. Kunitz, M. : Crystalline soybean trypsin inhibitor, *J. Gen. Physiol.*, 30, 1947
11. Lowry, O. H., Rosenbrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. : Protein measurement with the folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.*, 193, 1951
12. Tappel, A. L., Miyada, D. S., Sterling, C. and Maier, V. P. : Meat tenderization. II. Factors affecting the tenderization of beef by papain. *Food Research*, 31, 1956
13. Tsutomu Yamaguchi, Yukiko Yamashita, Imao Takeda and Hisashi Kiso : Proteolytic enzymes in green asparagus. Kiwi fruit and mint occurrence and partial characterization. *Agr. Biol. Chem.*, 45(8): 1982
14. 최혜정 : 키위단백질 분해효소가 casein의 기능성에 미치는 영향, 연세대학교 석사학위 논문, 1990
15. 서형주, 이호, 조홍연, 양한철 : 파인에플 bromelain의 정제 및 특성. 한국농화학회지, 35(4): 1992
16. 기해진, 황영성, 김강화, 홍윤호 : 무화과 단백질 분해효소의 식품에의 응용, 한국축산식품 학회지, 18(1): 1998
17. 김현옥, 김영주, 이상열, 김광수, 정숙근 : 식육의 연화에 관한 연구, 식물즙액에서 단백질분해효소분리 이용실험, 축산시험장 연구보고서, 1978

(2000년 7월 25일 접수)