



## 국산배에서 추출한 단백질 분해효소의 식육 연화제로서의 활용에 관한 연구

한 승 관\* · 진 구 복<sup>1</sup>

전주대학교 EM연구개발단, <sup>1</sup>전남대학교 동물자원학부 및 생물공학연구소

## Study on Meat Tenderness of a Protease Extracted from Domestic Pear

Seung K. Han\* and Koo B. Chin<sup>1</sup>

The Center for EM R&D, Jeonju University

<sup>1</sup>Dept. of Animal Science and Biotechnology Research Institute, Chonnam National University

### Abstract

Domestic pear has been reported that it contained a protease, which used for tenderizer of meat, however no researches for optimum level of the enzyme with maximum tenderness effect have been studied. Thus, this study was performed to determine the optimum level of a protease for meat tenderness. Moisture contents (%) of domestic pears was determined. A protease was homogenized in a mixer and centrifuged at 10,000 G for 1 hr. After taken the supernatant, dialysis was conducted to remove salts and sugars, and freeze-dried. Then, various level (0.05, 0.1 and 0.2%) of the purified protease were added to pork loins (3 cm thickness). Then, pork samples were boiled at 80 for 12 min in a water bath to reach the interval temperature of 71 and chilled in an ice. Moisture contents (%) of domestic pears ranged from 87.2 and 87.8%. No differences in cooking loss of pork meats were observed ( $p>0.05$ ) among various levels of a protease. After centrifugation, the protein concentrations of a protease showed from 5.96  $\mu\text{g}/\text{mL}$  to 7.25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Increased level of a protease up to 0.1% reduced ( $p<0.05$ ) the shear value (kg/g), however no further reduction of shear value was observed at the level of higher than 0.1% of the purified protease. The approximate molecular weight of the protease analysed by sodium-dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) was 30 kDa. These results suggest that the optimum level of a protease for the maximum effect of meat tenderness is above 0.1%. Further research will be performed to determine the effect of various domestic pears and ingredients, such as salt and phosphate, on meat tenderness.

**Key words** : domestic pear, protease, tenderizer, sodium-dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)

### 서 론

질긴 고기를 연하게 하는 방법으로서 가열, 가압(Macfarlane, 1985), 단백질 분해효소 처리(Dransfield and Etherington, 1981; Elkhalfi and Marriott, 1990) 등의 방법이 이용되고 있으나 변색, 변질, 과다 연화 등의 문제점들이 나타나고 있어 보다 안전하고 효과적인 연화방법이 필요시 되고 있다. 현재 활용되고 있는 식육 연화제는 주로 열대 과일에 들어있는 단백질 분해효소로서 그 대표적인 것들로는 파파이

아의 파파인, 파인애플의 브로메라인, 무화과의 휘친, 양다래(키위후르츠)의 액티니딘 등(Douglas et al., 1973; Glazer and Smith, 1971; Kang and Rice, 1970; Kim and Taub, 1991)이 있다. 그러나 이러한 단백질 분해효소는 활성이 대단히 강하여 과도한 고기 연화의 경향(Kang and Rice, 1970)이 있으므로 새로운 단백질 분해효소의 개발이 필요하다.

우리나라에서는 오래 전부터 고기 연화를 하는데 배를 이용하여 왔으나, 그 원인이 배가 함유하고 있는 단백질 분해효소라는 것을 보고하였다(Cheo et al., 1996). Kim 등(2003)은 파인애플 및 파파야 등 열대 과일 유래의 단백질 분해효소 단일로 처리할 때의 단점인 과잉분해의 문제점이 배 단백질 분해효소의 혼합이용을 통해 개선될 수 있는 가능성이 있다고

\* Corresponding author : Seung-Kwan Han, The Center for EM R&D, Jeonju University, Jeonju 560-759, Korea. Tel: 82-63-220-2919, Fax: 82-63-220-2923, E-mail: hskgb@hanmail.net

제시하였다. 특히, Choe와 Park(1996)은 한국산 배에 식육연화제로서 이용 가능한 단백질 분해효소가 들어 있음이 확인되었다고 보고하였다. 따라서 본 연구는 국산 배에서 단백질 분해효소를 분리, 정제하여 단백질 효소의 농도별 돈육 등심에 대한 연화 정도를 측정하여 가장 적당한 농도를 찾고자 실시하였다.

### 재료 및 방법

#### 단백질 분해효소의 추출과 단백질 정량(µg/mL)

배 단백질 분해효소 추출은 Choe 등(1996)의 방법을 참고하여 실시하였다. 단백질 분해효소의 분리 및 정제를 위하여 배 과육과 동일량의 0.1 M L-cysteine과 1 mM EDTA(pH 7.0) 용액을 혼합하여 pH를 5.0으로 조절한 후, mixer로 균질화시킨 후 filter paper로 여과한 다음 10,000 rpm에서 1 hr 동안 원심분리 하였다. 원심분리된 배즙의 상등액을 0.01 M L-cysteine과 0.001 M EDTA(pH 6.0)를 외액으로 하여 12시간 정도 투석한 후 30시간 가랑 동결 건조하여 사용하였다. 정제된 단백질 분해효소를 각각 0.05, 0.1 및 0.2%를 돼지고기 등심부위에 첨가하였다. 배의 단백질 함량을 알아보기 위해 표준마크(broad range marker)를 사용하여 측정하였다.

#### 가열 및 가열손실(%)

신고와 추황의 각각의 단백질 분해효소를 첨가하여 돼지고기 등심의 내부중심 온도가 71°C가 도달하게 항온수조에서 80°C가 된 후 12분 동안 가열하였다. 가열 후 고기의 가열 손실을 알아보기 위해 소실 함량을 측정하였다.

#### 수분 함량(%)

국산 배의 수분함량(%)은 AOAC(1995)의 방법에 의해 측정하였다.

#### 전단력 측정

전단력은 Texture meter(TA-XT2, Stable Micro System, Hasemere, England)를 이용하여 Bourne(1978)의 방법에 의해 측정하였다.

#### 전기영동(SDS-PAGE)

전기영동은 Laemmli(1970)의 방법에 의해 측정하였다.

### 결과 및 고찰

두 종류의 국산배 신고와 추황의 수분 함량과 단백질 함량은 Table 1과 같다. 신고와 추황의 수분 함량은 각각 87.8%와

Table 1. Moisture contents (MC, %) and protein solubility (PS, µg/mL) of two kinds of domestic pears

Kinds	Parameter		
	MC (%)	PS (µg/mL)	
		Before dialysis	After dialysis
Shingo	87.8±0.32	5.96±0.18	0.19±0.15
Chuhwang	87.2±0.46	7.25±0.23	0.24±0.19

87.2%를 보였으며, 단백질 함량은 5.96 µg/mL와 7.25 µg/mL를 나타냈다. 수분함량과 상관없이 추황의 단백질 함량이 높은 것을 알 수 있었다. 투석한 경우는 신고가 0.19 µg/mL, 추황이 0.24 µg/mL를 나타내 투석할 경우 오히려 단백질 함량이 감소하는 경향을 나타냈다.

두 국산배의 단백질 분해효소 첨가 수준에 따른 돈육 등심의 가열손실을 Table 2에 나타냈다. 신고와 추황에서 분리 정제한 단백질 분해효소를 첨가하지 않은 대조구와 각각 0.05%, 0.1% 및 0.2%를 첨가한 시료를 81°C에서 가열하였다. 그 후 가열 손실을 측정된 결과 신고와 추황은 대조구에서 17.6과 17.7로 가장 낮은 경향을 보였으나 유의적인 차이는 없었다. 신고에서 분리 정제한 단백질 분해효소를 0.05% 첨가했을 때와 추황에서 분리 정제한 단백질분해효소를 0.1% 첨가했을 때 가열 손실율이 각각 19.8과 18.1로 가장 높은 수치를 보였으나 큰 차이는 보이지 않았다.

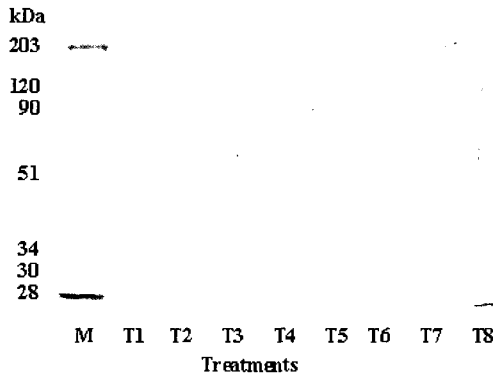
국산 배 두 종류를 원심분리기로 추출한 후, 투석한 단백질 분해효소를 첨가하지 않은 대조구와 각각 0.05%, 0.1% 및 0.2%를 첨가한 돈육 등심의 전단력을 Table 3에 나타냈다. 그 결과 신고에서 6.24, 5.69, 5.37 및 5.58을, 추황에서 5.44, 4.92, 4.65 및 4.80을 나타냈다. 신고와 추황의 정제된 단백질 분해효소를 0.1% 첨가했을 때 가장 낮은 전단력을 보였고 첨가

Table 2. Cooking loss (%) of ground pork loin as affected by level of a protease at two kinds of domestic pears

Kinds	CTL	0.05%	0.1%	0.2%
Shingo	17.6±0.1	19.8±0.2	17.9±0.1	17.8±0.1
Chuhwang	17.7±0.0	17.9±0.1	18.1±0.1	17.8±0.1

Table 3. Mean shear values (kg/g) in pork loins as affected by level of a protease at two kinds of domestic pears

Treatment	CTL	0.05%	0.1%	0.2%
Shingo	6.24 <sup>d</sup>	5.69 <sup>c</sup>	5.37 <sup>c</sup>	5.58 <sup>b</sup>
Chuhwang	5.44 <sup>d</sup>	4.92 <sup>c</sup>	4.65 <sup>a</sup>	4.80 <sup>b</sup>



**Fig. 1. Protein fractions of a protease extracted from domestic pears.** M: marker, T1, T2: before dialysis Shingo, T3, T4: after dialysis Shingo, T5, T6: before dialysis Chuhwang, T7, T8: after dialysis Chuhwang.

하지 않은 것에 비해 각각 14%와 15%의 감소를 나타냈다. 한편 0.2%를 첨가한 처리구는 전단력이 오히려 0.1% 첨가한 것보다 높아 연도에 최대효과를 줄 수 있는 적정함량은 0.1% 이상으로 사료된다.

신고와 추황의 투석 전·후의 단백질 분자량을 전기영동에 의해 실험한 결과는 Fig. 1과 같다. 전기영동에 의한 단백질의 분자량은 신고와 추황이 투석과는 관계없이 약 30 kDa을 나타냈다. 투석을 하는 이유는 배에 많이 포함되어 있는 당분을 제거하기 위한 것으로 단백질 분해효소에 대한 단백질은 같은 분자량의 밴드를 보였다. 즉, 신고와 추황이 포함하고 있는 단백질 분해효소와 관련있는 단백질분자량은 약 30kDa이라는 사실을 알게 되었다. 따라서 국산 배인 신고와 추황의 약 30kDa의 단백질 분자량만을 동정한다면 고기를 연화시키는 연화제를 대량 생산할 수 있으리라 사료된다.

### 요 약

본 연구는 국산 배에서 단백질 분해효소를 분리, 정제하여 단백질 효소의 농도별 돈육 등심에 대한 연화 정도를 측정하여 가장 적당한 농도를 찾고자 실시하였다. 단백질 함량은 5.96 µg/mL와 7.25 µg/mL을 나타냈었으나 투석한 경우는 신고가 0.19 µg/mL, 추황이 0.24 µg/mL를 나타내 투석할 경우 오히려 단백질 함량이 감소하였다. 투석한 단백질 분해효소를 첨가하지 않은 대조구와 각각 0.05%, 0.1% 및 0.2%를 첨가한 후 81°C에서 가열한 후 냉각한 돈육 등심의 전단력은 신고에서 6.24, 5.69, 5.37 및 5.58을 추황에서 5.44, 4.92, 4.65 및 4.80을 나타냈다. 신고와 추황의 정제된 단백질 분해효소를 0.1% 첨가했을 때 가장 낮은 전단력을 보였고 첨가하지 않은 것에 비해 각각 14%와 15%의 감소를 나타냈다. 전기영동에 의한 단백질의 분자량은 약 30kDa을 나타냈다. 연도에 최대

효과를 줄 수 있는 적정함량은 0.1% 이상이라 사료된다.

### 참고문헌

1. AOAC (1995) Official methods of analysis. 16th ed, Association Official Analytical Chemists, Washington, DC.
2. Bourne M. C. (1978) Texture profile analysis. *Food Technol.* **32**, 62-66.
3. Choe, I. S. and Park, Y. J. (1996) A study on the utilization as meat tenderizer from Korean pear protease. *Kor. J. Food Sci. Ani. Resour.* **16**, 89-93.
4. Choe, I. S., Park, Y. J., Ishioroshi, M., and Samejima, K. (1996) A new protease in Korean pears as meat tenderizer. *Animal Science and Technology* **67**, 43-46 (in Japanese).
5. Douglas, N., Hodes, D. N., and Dransfield, E. (1973) Effect of pre-slaughter injections of papain on toughness in lamb muscles induced by rapid chillings. *J. Sci. Food Agric.* **24**, 1583-1587.
6. Dransfield, E. and Etherrington, D. (1981) Enzymes and food processing. Elsevier Applied Science Publishing, London and NY, pp. 177-181.
7. Elkhalfi, E. A. and Marriott, N. G. (1990) Comparison of the effects of achromobacteriophage and splenic pulp on collagen of restructured beef. *J. Muscle Foods* **1**, 115-119.
8. Glazer, A. M. and Smith, E. L. (1971) Papain and other sulfhydryl proteolytic enzymes. In: *Enzymes*. 3rd ed, pp. 501.
9. Kang, C. K. and Rice, E. E. (1970) Degradation of various meat fraction by tenderizing enzymes. *J. Food Sci.* **35**, 563-567.
10. Kim, E. M., Choe, I. S., and Hwang, S. G. (2003) Effects of singular manner or mixed type treatment of proteases isolated from pear, pineapple and kiwifruit on actomyosin degradation. *Kor. J. Food Sci. Ani. Resour.* **23**, 193-199.
11. Kim, H. I. and Taub, I. A. (1991) Specific degradation of myosin in meat by bromelain. *Food Chemistry* **40**, 337-342.
12. Laemmli, U. K. (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* **227**, 680-685.
13. Macfarlane, J. J. (1985) High pressure technology and meat quality. In: *Developments in meat science* (3), Elsevier Applied Science Publishing, London and NY, pp. 155.