

국내산 무화과에서 추출한 protease 조효소액의 안정성과 최적화에 관한 연구

김미현¹ · 노정해[†] · 김미정²
한국식품연구원[†], 배화여자대학 전통조리과²

Stabilizing and Optimizing Properties of Crude Protease Extracted from Korean Figs

Mi Hyun Kim¹, Jeonghae Rho[†], and Mee-jeong Kim²

Korea Food Research Institute¹

Department of Traditional Cuisine, Baewha Women's University²

Abstract

Protease activity of fig (*Ficus carica* L.), cultivated in Korea was estimated. In particular, the proteolytic effect on myofibrillar protein was studied. A crude protease extract of fig was prepared in two ways; fig was homogenized in buffer followed by centrifugation, and the supernatant was precipitated by saturated ammonium sulfate followed by dialysis. The former method resulted in 41.15 mM/g fig protease activity, whereas the latter method resulted in 17.65 mM/g fig protease activity. The crude fig protease extract showed high specificity for casein as a substrate followed by egg white, bovine serum albumin, myofibrillar protein, collagen, and elastin. The extract had stable proteolytic activity in a pH range of 6.5~9.0 (optimal at pH 7-8) but lost activity, at pH 2-3. Proteolytic activity for myofibrillar protein was sensitive to pH. The proteolytic activity of the fig extract was steady up to 60°C but declined at higher temperature. It also began to lose stability in salt concentrations >0.7 M NaCl. Fig has been used as a meat tenderizer for cooking, and these results support the tenderizing effectiveness of fig, particularly for Korean style meat marinating.

Key words : Korean fig, Protease activity, Meat tenderizer, Crude protease extract

1. 서론

무화과(*Ficus carica* L.)는 뽕나무과에 속하는 반교목성 과수로 우리나라에서는 남부지방, 특히 전라남도과 제주도 지역에서 주로 자라며(Kim JO 등 2006), 봉래시(Horaish)와 마스이도우핀(Masui Dauphine)의 두 종이 재배되고 있다. 무화

과는 독특한 향기와 부드러운 과육을 지니고 있으며, 수분이 많고, 포도당과 과당 함량이 높아 당도가 높고 유기산 함량이 적어 단맛이 강하게 느껴지는 과일이다(Kim SS 등 1992). 무화과는 과실 자체로 식용되어지나 예로부터 약용으로 쓰이기도 했는데, 동양의학에서는 발진 및 궤양, 소화불량, 식욕부진, 장염, 변비, 이질 치질 등에 사용하였다. 우리나라 동의보감과 민간요법에서는 설사, 각혈, 위통, 피부질환과 부인병, 빈혈 등에 좋은 것으로 알려져 있고 한의학에서는 청열해독의 약리효과와 어독 및 주독 등에 치료에 사용되어 왔다(Shin MK 1997). 이는 무화과가 지닌 단백질 분해 효소, 항산화성 등과 관련이 있는 것으로 여겨진다.

[†]Corresponding author : Jeonghae Rho, Korea Food Research Institute, BaekHyun-Dong 516 Bundang-Gu, SeongNam, Korea
Tel: 82-31-780-9060, 82-10-5246-8666
Fax: 82-31-709-9876
E-mail: drno@kfri.re.kr

무화과는 단백질 분해효소인 ficin을 다량 함유하여(Caygill JC 1979) 고기 등에 연육제로 이용되어 왔다(Kim JP 등 1986, Kim JS와 Kim JP 1987, Iizuka K와 Aishima T 2000). 또한 식이섬유, 무기질, 폴리페놀의 우수한 급원으로 특히 칼슘 함량이 매우 높고, 지방과 나트륨 함량이 적고, 콜레스테롤을 저하시키는 피토스테롤(phytosterols)인 라노스테롤(lanosterol)과 스틱마스테롤(stigmasterol) 등을 함유하고 있는 건강 과일로 알려져 있다(Vinson JA 1999). 다른 과일보다 섬유소의 함량이 많아 혈중 콜레스테롤의 저하에 따른 심장질환 및 비만치료효과(Kim BS 등 2003)가 보고되어있고 이외에도 식품기능성에 관한 연구로서, 항산화성(Jeong MR 등 2002), 혈중지질 저하(Lim KT 등 2005), 식중독균에 대한 항균(Jeong MR 등 2005) 등이 있다. 또한 추출물의 활성으로는 항균활성 (Kang SK와 Chung HJ 1995, Kang SK 등 1995, Moon CK 등 1997, Ryu SR와 Jung ST 1999, Ryu SR 1999), 피지 생성 억제(Park SJ 등 2006), 살충 활성(Chon SU 등 2008) 등이 있다.

무화과는 성장속도가 빠르고 내병성이 크기 때문에 농약을 사용하지 않는 유기농 식품이면서 건강 지향적 식품임에도 불구하고, 수확기간이 짧고 저장성이 낮아 아직까지는 대중적인 소비가 이루어지지 않고 있다. 무화과는 냉장유통으로도 일주일 이상 보관이 어려워 수확 즉시 가공 처리하지 않으면 상품가치가 떨어지는 단점이 있어(Kim KH 1981) 다양한 가공품의 개발이 필수적이다. 무화과는 당분 함량이 높아 서양에서는 건과, 잼, 젤리, 술, 주스 등의 재료로 쓰이나 국내에서의 가공품은 제한적이다. 현재 무화과 소비의 대부분은 생과일의 형태이나, 그동안 무화과를 이용한 제품의 시도로서 소고기 연화용 무화과 콘서브(Park BH와 Park WK 1994, Park BH 등 1999), 무화과 분말 연육제(Rho JH 2000), 무화과 잼(Hou WN와 Kim MH 1998, Hou WN 등 1999, Koh JS와 Yang YT 2001), 무화과 와인(Jeong MR 등 2005a) 또는 진분 종류를 달리한 무화과편(Vinson JA 1999), 무화과 유액의 이용(Kee HJ 등 1998), 무화과 펙틴에스테라제의 이용(Hou WN 등 1998), 무화과 식초(Kim DH 1999), 무화과를 이용한 속성발효 멸치액젓(Kang SG 등 2001), 기능성 음료(Kim JO 등 2008)으로 이용하는 연구가 있었으나 널리 이용되지는 못하고 있는 실정이며, 건과로 소비되는 무화과의 대부분은 수입산이다. 이에 국내산 무화과를 활용

한 새로운 가공식품의 개발이 절실히 필요한 실정이다.

이렇듯 건강 기능성도 우수하나 저장성이 낮아 이용에 제한적인 무화과를 이용하여 고부가가치 상품 개발의 일환으로 무화과의 조효소액을 추출하여 이에 대한 특성을 살펴본다. 우리나라에서 재배되는 과실의 단백질 분해효소에 대한 연구는 파인애플(Choi C 등 1992, Suh HJ 등 1992), 배(Shin MH 등 1994, Choe IS와 Park YJ 1996), 키위(Cho SJ 등 1994, Rho JH 등 2002, Kim EM 등 2003), 등이 있다. 또한 키위, 배, 파인애플 등의 연육효과(Bai YH와 Rho JH 2000a, Bai YH와 Rho JH 2000b)등에 관한 연구 등이 보고되었다. 본 연구에서는 국내에서 생산되는 무화과 단백질 분해효소의 최적 활성, 안정성 등의 효율성과 특히 근원섬유에 대한 단백질분해특성을 규명하고 이러한 효소작용 조절을 통하여 산업적인 연계를 구축하여 국내산을 선호하는 소비자들에게 국내산 무화과를 이용한 연육효과를 과학적으로 입증하여 그 사용을 넓히고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 재 료

본 실험에 사용한 무화과는 전남 영암지역에서 생산되는 국내산(마스도후인 품종)으로 삼호농협에서 2009년도 9월에 구입하였으며 냉동보관(-45℃)하여 사용하였다.

근원섬유의 조제를 위한 한우 소고기의 우둔은 가락시장 내 축산물시장에서 도축 후 약 24시간 경과한 한우육을 구입하여 실험에 사용하였다..

2. 단백질 분해 조효소액의 추출

무화과의 단백질 분해효소는 Cho 등(1994)의 방법을 참고하여 Fig. 1과 같은 방법으로 추출하였다. 즉, 무화과에 2배의 0.1 M Sodium phosphate buffer(pH 7.0), 5 mM Cysteine, 2 mM EDTA를 가하여 blender(K555, KitchenAid, NY, USA)로 균질화하여 cheesecloth로 여과하였고 여과액을 5,500 rpm에서 20분간 원심분리(SORVALL RC-6, SORVALL Co Ltd., Germany)한 후 상등액을 사용하였다(추출물 A). 이 상등액에 70% 포화황산암모늄을 가하여 효소 단백질을 응집, 침전

시키고 원심분리한 후 침전물을 모아 0.1 M Sodium phosphate buffer(pH 7.0)에 녹인 후 동일한 완충용액에서 18시간 동안 투석하여(추출물 B) 추출물 200 mL을 얻었다.

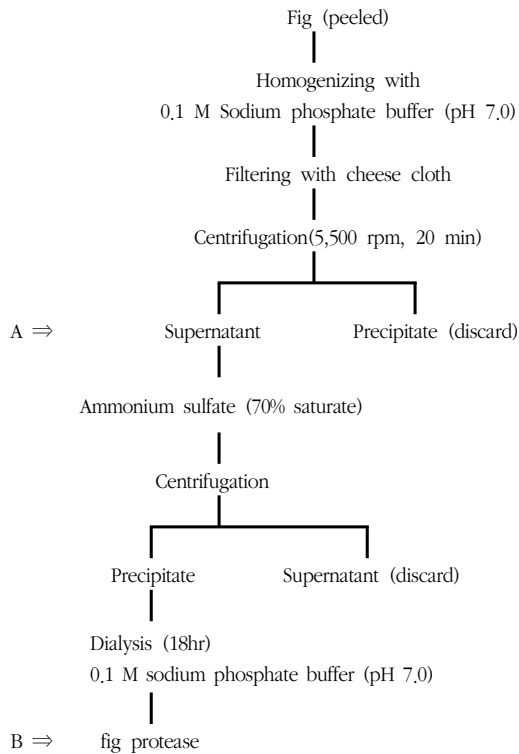


Fig. 1. Extraction procedures of fig protease

3. 기질용액의 조제 및 단백분해효소 기질 선택성

효소의 활성은 Kunitz법(Kunitz M 1947)에 따라 측정하였다. 즉, Hammastein 카제인을 0.1 M Sodium phosphate buffer(pH 7.0), 5 mM Cysteine, 2 mM EDTA에 1% 농도가 되도록 용해하여 90℃에서 15분간 열처리 후 냉각시켜 기질 용액으로 하고 사용할 때에는 37℃ water bath(JSWB-IIT, JS Research Inc, Gongju, Korea)에서 가온하여 사용하였다.

조효소액(A)의 기질에 따른 선택성을 비교하고자 다른 종류의 단백질 기질을 이용하여 단백분해활성을 측정하였다. 사용된 여러 가지 단백질은 카제인, egg white, bovine serum albumin(BSA), collagen, elastin, myofibrillar protein 등 여러 가지 단백질은 Simga(St. Louis, MO, USA)사의 제품을

사용하였으며, 이들 단백질은 위와 같은 방법으로 조제하였다.

4. 효소의 단백 분해 활성

기질용액 1 mL에 효소용액(추출물 A) 2 mL를 가한 후 37℃에서 20분간 반응시키고 5% TCA(trichloroacetic acid) 3 mL를 넣어 반응을 정지시킨 후 30분간 실온에서 방치하여 분해되지 않은 단백질을 침전시키고 Whatman No. 40 여과지(Madstone, UK)로 여과시킨 후 여액을 280 nm에서 흡광도를 측정(atomic absorption spectrophotometer, UVIDEC-610, Jasco, Tokyo, Japan)하였다.

5. 근원섬유의 제조

소고기의 우둔 부위 30 g을 채취하여 그 중량의 5배량의 pyrophosphate relaxing buffer(0.1 M KCl, 2 mM MgCl₂, 2 M EGTA, 1 mM DTT, 2 mM Na₄P₂O₇, 0.01 M Tris-maleate buffer/pH 6.8-NaOH)를 가한 후 5,000 rpm에서 1분간 homogenize를 하고 1,000×g에서 10분 동안 원심분리하여 침전물을 채취하여 5배량의 relaxing buffer 용액(0.1 M KCl, 2 mM MgCl₂, 2 M EGTA, 1 mM DTT, 0.01 M Tris-maleate buffer/pH 6.8-NaOH)으로 현탁하여 사용하였다.

6. 조효소의 안정성

무화과 조효소액(추출물 A)을 pH 2-9로 맞춰진 0.1 M Sodium phosphate buffer로 희석한 후 4℃에서 24시간 방치하고 카제인에 대한 단백분해 활성을 측정하여 조효소의 pH 안정성을 조사하였다. 즉, 0.1 M Sodium phosphate buffer에 희석된 조효소액을 20~80℃의 온도에서 각각 20분간 방치 후 신속히 냉각시키고 나서 1% 카제인에 반응시켜 실험된 조효소의 단백분해 활성을 측정하였다(Kim BS 등 2003).

7. 카제인과 근원섬유에 대한 조효소의 최적 활성

조효소의 최적 pH는 1% 카제인 용액 1 mL에 pH 2~9이 되도록 조제한 0.1 M Sodium phosphate buffer를 만들어 조효소를 각각의 buffer에 작용시키고 조효소액(추출물 A) 2 mL를 가한 후 40℃에서 20분 반응시켜 조효소의 활성을 측

정하였다(Lynn KR 등 1986).

조효소의 최적 온도는 1% 카제인 용액 1 mL에 0.1 M Sodium phosphate buffer로 희석된 조효소액 2 mL를 넣고 20~80°C의 온도에서 각각 20분간 반응시킨 후 조효소의 활성을 측정하였다.

1% 카제인 용액 1 mL에 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 M로 농도를 조정된 NaCl 1.5 mL를 첨가한 후 무화과 조효소액 0.5 mL를 가하여 40°C에서 20분간 반응시켜 조효소의 활성을 측정하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 무화과의 단백질 분해 조효소 추출

무화과 중의 조효소를 추출하고 단백질 분해 조효소의 추출 단계에 따라 활성도를 측정하였다. 무화과를 buffer에 균질화한 후 여과하여 원심 분리한 A 단계에서 1.60 mL의 조효소액을 얻었고 19.41 mM/mL의 활성을 나타내었으며 단백질을 염으로 침전시킨 후 투석한 B 단계에서는 44.13 mM/mL의 활성을 나타내었다(Table 1).

Table 1. Protease activity of extracts from figs.

steps	protease activity of crude protease extract	protease activity yield per fig used
A	19.41 mM/mL	41.15 mM/g fig
B	44.13 mM/mL	17.65 mM/g fig

A: Crude protease extract by homogenized fig followed by centrifugation(ref. Fig. 1)

B: Crude protease extract, step A above(ref. Fig. 1)

이를 처음 사용하였던 무화과의 양으로 환산하면 A 단계의 조효소액은 41.15 mM/g fig이었으며, B 단계의 조효소액은 17.65 mM/g fig를 나타내었다. 추출물 A의 경우 아직 당이 상당량 존재할 것으로 예상되는데 불구하고 당이 단백질 분해효소의 활성을 크게 방해하는 것으로는 보여지지 않았다. Bai YH와 Rho JH(2000a)은 무화과의 단백질 분해능력이 22.83 mM/g 라고 보고하였으며 A 단계의 조효소액의 단백질 분해 활성을 다른 과실과 비교하면 파인애플(68.8 mM/g), 키위(59.2 mM/g)보다는 낮고 배(20.51 mM/g)보다는 높은 것으로 나타났다.

2. 무화과 단백질 분해 조효소의 기질 특이성

무화과 조효소액 A는 카제인에 탁월한 단백질 분해 효능을 가지고 있음을 알 수 있었다(Fig. 2). 다른 과실유래 단백질 분해효소(파인애플, 무화과, 배 등)들도 일반적으로 근원섭유보다 카제인에서 단백질 분해 효능이 월등히 높은 것으로 나타났다(Hou WN 등 1999). 그러나 Kim MH 등(2010)의 연구에 따르면 키위의 경우 카제인과 근원섭유에 탁월한 단백질 분해 효능을 보였다. 무화과 조효소액의 여러 가지 기질에 따른 특이성을 비교하기 위해 측정한 결과는 Fig. 2와 같으며 casein > egg white > BSA > myofibrillar protein > collagen > elastin 등의 순으로 분해가 되었다. 특히 collagen의 경우 키위에서의 분해 능력보다 높아 키위와 무화과를 혼합하여 사용한다면 우수한 연육작용을 기대할 수 있으리라 사료된다.

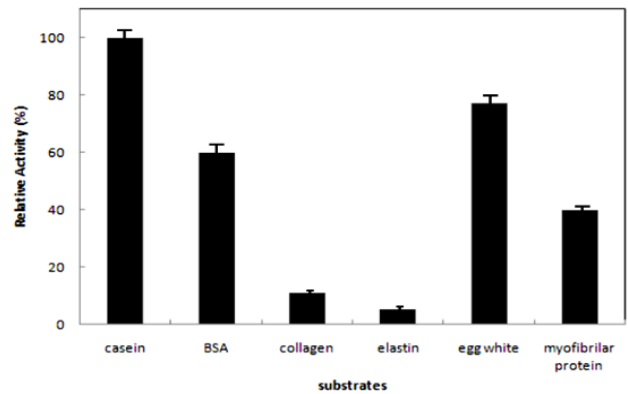


Fig. 2. Substrate selectivity of protease extracted from figs.

3. 무화과 단백질 분해 조효소의 안정성

무화과 단백질 분해 조효소의 pH 안정성은 Fig. 3에서 보여주듯이 pH 9.0에서 약 50% 정도의 활성이 존재하였으나 pH 2~3의 강산에서는 실활하였다. 일반적으로 간장 등이 들어간 sauce 등은 약산의 경우가 많으므로 최적의 연육효과를 위해서는 무화과 조효소액을 이러한 sauce 등에 오래 두는 것은 바람직하지 않은 것으로 여겨지며 무화과 조효소를 이용한 연육 sauce 등의 제조에 있어서 pH 조절이 필요할 것으로 예상된다. 한편으로 Sugiura M와 Sasaki M(1974)는

ficin이 4℃, pH 2.0~8.0의 조건에서 20시간 동안 안정하다고 보고하였고 Kim JP 등(1986)은 pH에 대한 안정성이 pH 2~8로 비교적 넓은 범위로 나타났다고 하였다.

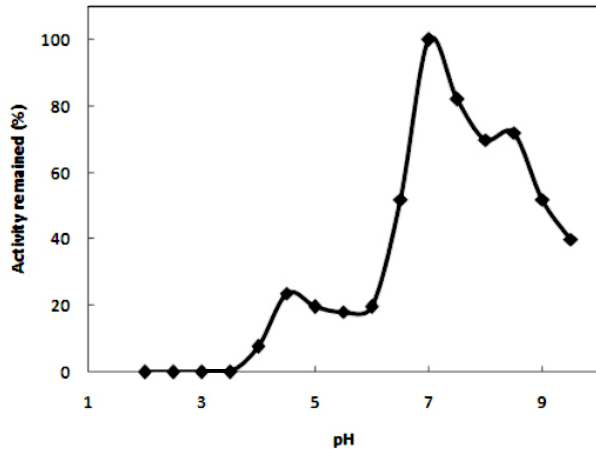


Fig. 3. Stability of protease extracted from figs against pH

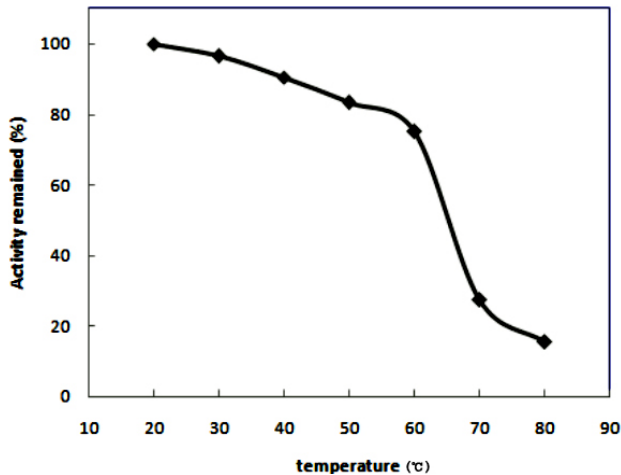


Fig. 4. Stability of protease extracted from figs against temperature

무화과 단백질 분해 조효소는 Fig. 4에서 보여주듯이 60℃까지는 역가의 변화가 거의 없으며 그 이상의 온도에서는 급격히 활성의 감소를 보이고 있다. 키위의 경우 60℃에서 약 30% 정도의 활성만이 잔존하나(Kim MH 등 2010) 무화과 조효소액의 경우 75%가 잔존하여 무화과 단백질 분해효소가 조금 더 열에 안정함을 알 수 있다. 무화과 단백질분해

효소를 추출하는 과정에서 높은 온도가 요구되는 경우는 추출된 단백질분해효소의 건조 과정이므로 무화과 단백질분해효소를 추출하고 나서 건조할 때는 동결건조 등으로 60℃ 이하의 온도의 처리를 하는 것이 단백질분해 효능을 유지할 수 있을 것이다. Park BH과 Park WK의 연구(1994)에서도 무화과 단백질 분해효소인 ficin의 열에 대한 안정 범위의 55℃에서 가열한 무화과 콘서브를 제조하였다고 보고하였고 이 온도의 범위는 이번 연구와도 잘 일치되는 결과였다. 한편으로 Sigiura M와 Sasaki M(1974)는 ficin이 60℃에서 30분간 안정하다고 보고하였고 Kim JP 등(1986)은 0 ~ 55℃의 범위로 안정성이 나타났다고 하였으며 Huang L 등(1986)은 65℃에서 반감기(half life)가 1시간 이상이라고 보고하였다.

무화과의 단백질 분해 조효소액의 염에 대한 안정성을 보면 0.7 M 정도의 소금 농도에서까지는 비교적 안정하나 그 이후로는 안정성이 떨어지는 것으로 나타났다(Fig. 5). 불고기 양념, 갈비 양념 등의 고기 조리용 소스 들은 간장을 base로 하는 경우들이 대부분이며 이 때 sauce 내의 소금의 농도는 이보다 높아, 무화과를 이용한 sauce 제조에서는 단백질 분해 효과 감증을 위한 저장성 연구가 필요할 것이다. 아직까지 단백질 분해 조효소에 대한 염 안정성에 관한 연구는 없는 것으로 조사되었으며 조효소를 이용한 sauce 등의 제조를 위해서는 염 안정성에 대한 고찰도 반드시 필요할 것으로 사료되었다.

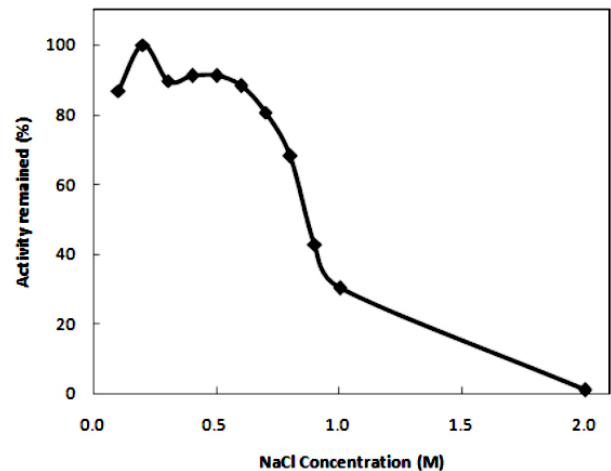


Fig. 5. Stability of protease extracted from figs against salt.

4. 카제인과 근원섬유에 대한 조효소의 최적 활성

조효소활성에 대한 pH의 영향을 검토하기 위하여 카제인 분해 능력과 근원섬유 분해 능력으로 활성을 비교한 결과 Fig. 6에서 보는 바와 같다. 단백질 기질을 카제인으로 쓰는

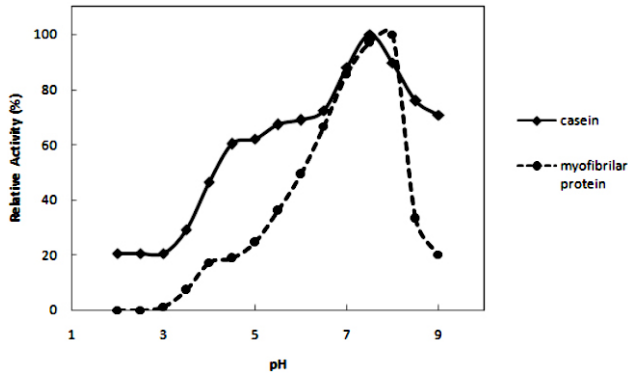


Fig. 6. The Effect of pH on protease activity of protease extracted from figs

경우와 근원섬유를 쓰는 경우 두 가지 모두에서 pH 7~8에서 높은 활성을 나타냈다. 카제인의 경우 pH 4.5 이상에서는 60%가 넘는 활성을 보이는 반면 근원섬유 기질에서는 pH 6.5에서 67% 정도의 활성을 나타내어, 근원섬유에 대한 단백 분해능이 pH에 매우 민감한 것으로 나타났다. 특히 pH 8.5 이후로는 근원섬유에 대한 단백 분해 활성이 급격히 떨어지는 것을 볼 수 있으며 연육효과를 위해서는 조리액의 pH 조절이 상당히 중요한 요인이 될 수 있음을 보여주었다. 한편 키위의 경우 카제인과 근원섬유에 대해 pH 3.0과 7.5에서 둘 다 높은 활성을 나타내었다(Kunitz M 1947). Kang SK와 Chung HJ의 보고(1995)에 따르면 무화과 미숙과의 경우 중성 protease와 alkaline protease가 소량 존재하며 숙성과에는 중성 protease가 약간 증가하며 alkaline protease의 함량은 10배 이상 증가하고 acid protease도 급증한다고 보고하였는데 이 연구에서는 acid protease의 활성은 보여지지 않았다. 한편으로 Sugiura M와 Sasaki M(1974)는 ficin pH 8.0에서, Kim JP 등(1986)은 pH 7.0에서, Lynn KR등(1986)은 pH 6에서 최대 활성을 나타낸다고 보고하였고 Huang L 등(2008)은 ficin은 넓은 범위의 pH와 온도에서 그 활성이 나타난다고 보고하였다. 이러한 차이들은 ficin의 추출 방법에

따라 다른 종류의 ficin subfraction이 추출되고 이에 따른 차이라고 여겨지며 이번의 연구에서 쓰여진 조효소액은 최소 가공을 통하여 얻어진 것으로 무화과 ficin 전체의 특성과 가장 유사할 것으로 사료된다.

무화과 단백질 분해 조효소의 활성에 미치는 온도의 영향을 검토한 결과(Fig. 7), 40℃ 이후부터 조효소의 활성이 증가하기 시작하여 60℃에서 최적 활성을 나타내었고 그 이상의 온도에서 점차적으로 다시 감소하였다. 근원섬유와 카제인에 대한 온도영향은 거의 동일하게 나타났으며 80℃에서도 근원섬유에 대한 단백 분해 활성은 최고치에 비해 50% 정도에 해당하는 것으로써 무화과 조효소의 활성이 비교적 온도에 민감하지 않음을 알 수 있었다. Sugiura M와 Sasaki M(1974)의 보고와 Kim JP 등(1986)에 따르면 ficin은 60℃에서 최대 활성을 보였다. 한편, 키위 단백질 분해 조효소의 활성 최적 온도는 카제인에 관해 40℃(Kim MH 등 2010) 또는 40~45℃(Kim KH 1981)로 보고되어 있고 근원섬유에 대해 40~50℃로 보고되어 무화과보다 낮은 온도에서 최대 활성을 가짐을 알 수 있었다. 과실을 이용한 연육효과는 특히 고기를 재어두는 과정에서 중요하게 사용되고 있으므로 우리나라 전통 조리인 불고기, 갈비찜 등에서 유용하게 쓰여질 수 있다. 30℃에서의 조효소활성도를 비교하여보면 카제인과 근원섬유에 대한 활성도가 최고치에 비해 10% 미만으로 나타나 재어두는 요리에서는 온도를 약간 높여주는 것이 필요할 것으로 사료된다.

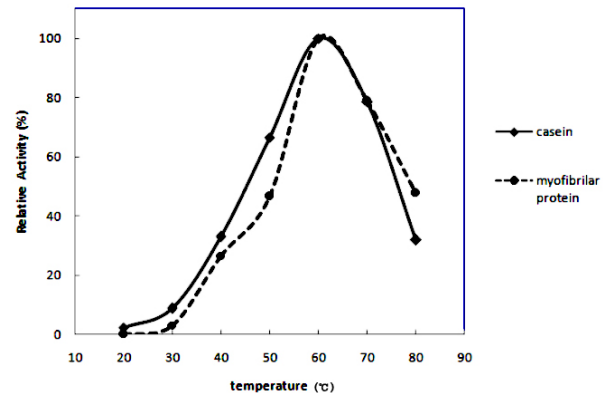


Fig. 7. The Effect of temperature on protease activity of protease extracted from figs

IV. 요약

5. 조효소활성에 대한 염 농도의 영향

무화과 단백질 분해 조효소의 염농도에 대한 영향을 보면 소금의 농도가 높아짐에 따라 그 활성이 약간씩만 감소되는 것을 볼 수 있었다(Fig. 8). 키위의 경우 1 M의 소금용액에서 최대 활성의 30% 활성을 나타내나(Kim MH 등 2010) 무화과는 70% 이상을 나타내어 무화과가 소금에 대해 민감하지 않음을 보여주었다. 일반적인 우리나라 조리방법에서 고기를 찢을 때 키위를 쓰는 경우에는 간장과 같이 염이 동시에 존재하는 곳에서 함께 쓰는 경우가 많은데 근원섬유에 대한 무화과 조효소액의 활성은 크게 낮아지지 않으므로 우리나라 조리 시 좋은 연육제로 이용할 수 있을 것으로 생각된다.

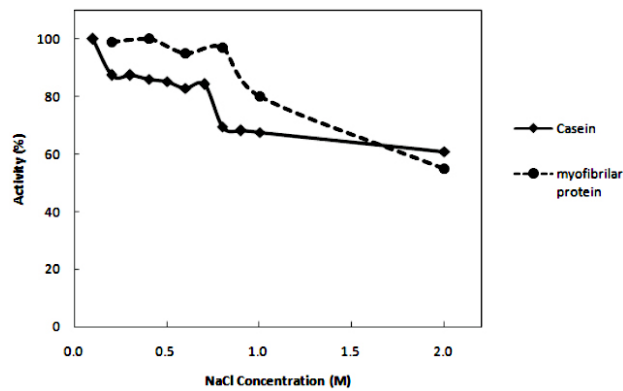


Fig. 8. The Effect of salt on protease activity of protease extracted from figs

이렇듯 무화과는 중성 pH와 60°C 이하에서 안정되며 소금 1 M 이상에서 안정성을 잃는다. 또한 무화과 단백질 분해 활성은 pH 7~8, 60°C에서 최적 활성을 나타내고 염 농도는 최적 활성에 큰 영향을 미치지 않았다. 무화과의 연육작용을 이용하거나 무화과를 사용한 sauce 등을 제조할 때 이러한 특성들을 이해한다면 우리나라 육류 요리의 좋은 연육제로 제조할 수 있을 것이다.

국내산 무화과(*Ficus carica* L.) 중의 조효소를 추출하고 단백질 분해 조효소의 활성도를 측정하였다. 무화과를 균질화하여 원심분리한 조효소액은 41.15 mM/g fig의 활성을 나타내었으며 단백질 침전 후 조효소액은 17.65 mM/g fig의 활성을 나타내었다. 무화과 조효소액의 기질 특이성은 casein > egg white > BSA > myofibrillar protein > collagen > elastin 등의 순이었다. 무화과 단백질 분해 조효소의 안정성을 보면 pH 6.5~9.0에서 안정하며 pH 2~3의 강산에서는 실활하였다. 또한 60°C까지는 역가의 변화가 거의 없으며 그 이상의 온도에서는 급격히 활성의 감소를 보이고 있다. 염에 대해서는 0.7 M 정도의 소금 농도에서까지는 비교적 안정하나 그 이후로는 안정성이 떨어지는 것으로 나타났다. 조효소활성에 대한 pH의 영향을 보면 pH 7~8에서 높은 활성을 나타냈으며 근원섬유에 대한 단백질 분해능이 pH에 매우 민감한 것으로 나타났다. 무화과 단백질 분해 조효소의 활성은 40°C 이후부터 조효소의 활성이 증가하기 시작하여 60°C에서 최적 활성을 나타내었고 그 이상의 온도에서 점차적으로 다시 감소하였다. 80°C에서도 근원섬유에 대한 단백질 분해 활성은 최고치에 비해 50% 정도에 해당하는 것으로서 무화과 조효소가 비교적 온도에 민감하지 않았다. 또한 염 농도는 최적 활성에 큰 영향을 미치지 않았다. 무화과를 사용한 sauce 등을 제조할 때 이러한 특성들을 이해한다면 우리나라 육류 요리의 우수한 연육제 제품을 제조할 수 있을 것이다.

참고문헌

- Bai YH, Rho JH. 2000a. The properties of proteolytic enzymes in fruits (pear, kiwifruit, fig, pineapple and papaya). *Korean J Soc Food Sci* 16: 363-366
- Bai YH, Rho JH. 2000b. Application of proteolytic enzymes in fruits for meat tenderization. *Korean J Soc Food Sci* 16: 367-371
- Caygill JC. 1979. Sulfhydryl plant proteases. *Enzyme and Microbial Technol* 1: 233-242
- Cho SJ, Chung SH, Suh HJ, Lee H, Kong DH, Yang HC. 1994.

- Purification and characterization of a protease actinidin isolated from cheju kiwifruit. Korean J Food Nutr 7: 87-94
- Choe IS, Park YJ. 1996. A study on the utilization as meat tenderizer from Korean pear protease. Korean J Food Sci Ani Resour 16: 89-93
- Choi C, Son GM, Cho YJ, Chun SS, Lim SI, Seok YR. 1992. Purification and characteristics of bromelain from Korean pineapple. J Korean Agric Chem Soc 35: 23-29
- Chon SU, Kim DI, Kang KS. 2008. Insecticidal potential of methanol extract and its fractions from fig (*Ficus carica L.*) leaves. Korean J Pesticide Sci 12: 243-248
- Hou WN, Kim MH. 1998. Processing of low sugar jams from fig pulp treated with pectinesterase. Korean J Food Sci Technol 30: 125-131
- Hou WN, Kim MH, Go EK. 1998. Partial purification of fig pectinesterase and characterization of its in situ activity. Korean J Food Sci Technol 30: 1169-1178
- Hou WN, Kim MH, Go EK. 1999. Processing of low sugar fig jam for marketable production. Korean J Food Sci Technol 31: 651-657
- Huang L, Qu H, Zhang L, Du S, Yang S, Hao D, Wang X. 2008. Purification and characterization of a proteolytic enzyme from fig latex. Chemical Research in Chinese Universities 24: 348-352
- Iizuka K, Aishima T. 2000. Comparing beef digestion properties of four proteolytic enzymes using infrared spectrometry and chemometric analysis. J. Sci Food Agric 80: 1413-1420
- Jeong MR, Cha JD, Lee YE. 2005a. Antibacterial activity of korean fig (*Ficus carica L.*) against food poisoning bacteria. Korean J Food Cookery Sci 21: 84-93
- Jeong MR, Cha JD, Yun SI, Han JH, Lee YE. 2005b. Manufacturing of wine with korean figs (*Ficus carica L.*) and quality improvement by adding fig leaves. J East Asian Soc Dietary Life 15: 112-118
- Jeong MR, Kim BS, Lee YE. 2002. Physicochemical characteristics and antioxidative effects of korean figs (*Ficus carica L.*). J. East Asian Soc Dietary Life 12: 566-573
- Kang SK, Chung DO, Chung HJ. 1995. Purification and identification of antimicrobial substances in phenolic fraction of fig leaves. J Korean Agric Chem Soc 38: 293-296
- Kang SK, Chung HJ. 1995. Solvent fractionation of fig leaves and its antimicrobial activity. J. Korean Agric Chem Soc 38: 289-292
- Kang SG, Yoon SW, Kim JM, Kim SJ, Jung ST. 2001. Quality of accelerated salt-fermented anchovy sauce prepared with fig. J Korean Soc Food Sic Nutr 30: 1142-1146
- Kee HJ, Hwang YS, Kim KH, Hong YH. 1998. Application of fig protease to foods. Korean J. Food Sci Ani Resour 18: 19-26
- Kim BS, Jeong MR, Lee YE. 2003. Quality characteristics of muhwakwa-pyun with various starches. Korean J Soc Food Cookery Sci 19: 783-793
- Kim DH. 1999. Studies on the production of vinegar from fig. J Korean Soc Food Sic Nutr 28: 53-60
- Kim EM, Choe IS, Hwang SG. 2003. Effects of singular manner or mixed type treatment of proteases isolated from pear, pineapple and kiwifruit on actomyosin degradation. Korean J Food Sci Ani Resour 23: 193-199
- Kim MH, Rho JH, Song HN. 2010. Stability and optimization of crude protease extracted from Korean kiwifruits. Korean J Soc Food Sci Technol in press
- Kim KH. 1981. Chemical components of korean figs and its storage stability. Korean J Food Sci Technol 13: 165-169
- Kim JO, Choi CR, Shin MS. 2006. A study on major local foods in Gwangju-jeonam area. Korean J Human Ecology 15: 327-339
- Kim JO, Kwon ST, Lee GD, Hong JH, Moon DH, Kim TW, Kim DI. 2008. Optimization of extraction condition on fig (*Ficus carica L.*) by response surface methodology. Korean J Food Preserv 15: 66-73
- Kim JP, Suh JS, Kim JS. 1986. Isolation and purification of ficin from fig latex. Korean J Food Sci Technol 18: 270-277
- Kim JS, Kim JP. 1987. Studies on the digestion of beef by ficin treatment. J Korean Agric Chem Soc 30: 210-218
- Kim SS, Lee CH, Oh SL, Chung DH. 1992. Chemical components in the two cultivars of Korean figs (*Ficus carica L.*). J Korean Agric Chem Soc 35: 51-54
- Kunitz, M. 1947. Crystalline soybean trypsin inhibitor. J Gen Physiol 30: 291
- Koh JS, Yang YT. 2001. Preparation of fig jam and its quality characteristics. Korean J Postharvest Sci Technol 8: 169-174
- Moon CK, Kim YG, Kim MY. 1997. Studies on the bioactivities of the extractives from *Ficus carica*. J Inst Agric Res 31: 69-79
- Lim KT, Lee SJ, Ko JH, Oh PS. 2005. Hypolipidemic effects of glycoprotein isolated from *Ficus carica* linnoeus in mice. Korean J Food Sci Technol 37: 624-630

- Lynn KR, Clevette-Radford NA, Ficin E, 1986. A serine-centered protease from *Ficus elastica*. *Phytochemistry* 25: 1559-1561
- Park BH, Kim YO, Kee HJ, Cho YJ, Choi HK, 1999. The effect of fig conserve additive on the physicochemical characteristics of beef obtained from various breeds. *J Korean Soc Food Sic Nutr* 28: 511-519
- Park BH, Park WK, 1994. A study on the manufacturing of fig conserves for beef tenderizing. *J Korean Soc Food Nutr* 23: 1027-1031
- Park SJ, Kim YM, Lim KS, Woo WH, Mun YJ, 2006. Inhibitory effect of extract of ficis folium on the sebum synthesis in human sebocyte cell line (SZ95). *Korean J Oriental Physiol Pathol* 20: 919-923
- Rho JH, Kim YB, Kil BI, 2002. The effect of bulking agent on quality of kiwifruit powder in the process of domestic kiwifruit tenderizer. *Korean J Food Sci Technol* 34: 805-810
- Rho JH, Lee SH, Kwon HK, 2000. The quality change of fruits containing proteolytic activity during storage and lyophilization. *J Korean Soc Food Sic Nutr* 29: 1057-1061
- Ryu SR, 1999. The synthesis of ketoconazole derivatives using biological activity compounds in fig as an antifungal agents. *J Korean Oil Chem Soc* 16: 299-306
- Ryu SR, Jung ST, 1999. The preparation and synthesis of antifungal agents using biological activity compounds separated in figs. *Appl Chem* 3: 165-168
- Shin MH, Yoon YY, Kim GN, Kil JE, Park IS, 1994. Properties of acid phosphatase from pear. *Foods Biotechnol* 3: 29-33
- Shin MK, 1997. *Limsangbonchohac*. Yonglimsa, Seoul. pp. 90-91
- Sugiura M, Sasaki M, 1974. Studies on proteinases from *Ficus carica* var. horaishi. v. purification and properties of a sugar-containing proteinase (ficin s). *Biochim Biophys Acta* 350: 38-47
- Suh HJ, Lee H, Cho HY, Yang HC, 1992. Purification and characterization of bromelain isolated from pineapple. *J. Korean Agric Chem Soc* 35: 300-307
- Vinson JA, 1999. The functional food properties of figs. *Cereal Food World*, 44: 82-87