

능이버섯 및 Protease효소의 첨가가 연육에 미치는 영향*1

조희연*2 · 정선화*3 · 조남석*3†

Effect of Neungi (*Sarcodon aspratus*) Mushroom and Its Protease Addition on the Meat Tenderizing*1

Hee-Yeon Cho*2 · Seon-Hwa Jeong*3 · Nam-Seok Cho*3†

요약

본 연구는 능이버섯 분말 및 능이버섯 protease의 첨가가 고기연육 및 식품첨가시 색깔변화에 미치는 영향을 구명하고자 실시하였다. 능이버섯 분말과 protease를 첨가로 처리고기의 높은 보수력을 결과하였는 바, 능이버섯의 protease는 무처리에 비해 26.8%, 설탕에 비해 13.8%의 보수력을 증가시켰다. 이러한 보수력 증가는 고기 단백질의 가수분해로 인한 수용성 성분의 증가로 인한 고기조직의 연육효과를 결과하는 것으로 판단된다.

능이버섯 분말과 protease의 처리로 소고기의 경도가 현저한 감소를 보였으며, 시판 연육제인 papain과 거의 동일한 연육효과를 가져왔다. 능이버섯 첨가로 인한 경도감소효과는 능이버섯분말이 51.6%, 능이버섯 protease는 58.5%, papain은 56.3%의 높은 경도감소를 나타냈다. 그 이유로서는 능이버섯의 protease가 actin, myosin, connectin을 비롯한 근원섬유 단백질을 효과적으로 분해를 시키기 때문으로 사료된다.

능이버섯의 첨가가 식품의 색깔변화에 미치는 영향을 조사한 결과, 능이버섯 분말첨가는 명도를 감소시켰으나, protease 첨가로 명도가 47.2로 높아졌으며, 설탕 및 papain도 protease와 유사한 명도를 나타냈다. 적색도와 황색도의 경우에는 대조구에 비하여 모든 처리에서 낮은 값을 보여주었다. ΔE값에 있어서 능이버섯 분말을 첨가하면 4.55로서 현저한 색차를 보여주었으며, protease, 설탕 및 papain은 2.07~2.74로서 감지할 수 있을 정도의 색차로 나타났다. 능이버섯 분말이 진한 색차를 초래한 것은 능이버섯이 가지는 색소에 기인하는 것으로서 생각된다.

*1 접수 2004년 3월 19일, 채택 2004년 4월 9일

본 연구는 농림기술관리센터('99첨단, 능이생리활성 성분연구)의 연구비 지원으로 수행되었음.

*2 미국 데이비스캘리포니아대학 분자세포생물학연구소, Section of Molecular & Cellular Biology, University of California Davis, Davis, CA 95616, USA

*3 충북대학교 산림과학부 목재종이과학전공, Wood and Paper Science, School of Forest Resources, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

† 주저자(corresponding author) : 조남석(e-mail: nscho@chungbuk.ac.kr)

ABSTRACT

This study was carried out to investigate the tenderizing effect of Neungi mushroom (*Sarcodon aspratus*) powder and its protease. The addition of Neungi mushroom powder and its protease enhanced water retention values (WRV) of meat. The WRV of meat was increased 26.8% by protease addition, compared to 13.8% WRV by sugar addition. This increase in WRV derived to the increase of water soluble fraction in the meat texture by hydrolysis of meat protein, and had the meat tenderized.

Concerned to the meat tenderizing effect, the addition of Neungi mushroom powder and its protease have decreased of meat hardness and gave similar tenderizing effect, as compared to commercial tenderizer, papain. The decreasing rates of meat hardness were 51.6% of Neungi mushroom powder, 58.5% of its protease, and 56.3% of commercial tenderizer, papain. This tenderizing effect of protease attributed to the degradation of muscle fiber protein in meat, such as actin, myosin and connectin etc. The addition of Neungi mushroom to foods gives significant changes in food color, mainly decreasing lightness.

Keywords: *Sarcodon aspratus* (Berk.), Neungi mushroom, protease, tenderizing effect, water retention value, hardness

1. 서 언

고온에서 안정성을 갖는 단백질 분해효소는 *Bacillus stearothermo-philus* (Dhandapani 등, 1994), *Thermoactinomyces* (Tsuchiya 등, 1992), *Thermus aquaticus* (Matsuzawa 등, 1987), 그리고 *Sulfolobus acidocaldarius* (Fusek 등, 1990)와 같이 고온의 환경에서 생존하는 호온성세균에서 얻는 것이 대부분인데 이러한 단백질 분해효소로는 thermopain (Fusek 등, 1990), aqualysin I, II (Matsuzawa 등, 1983), caldolyisin (Taguchi 등, 1983) 등이 있다.

능이버섯으로부터 단백질 가수분해효소(proteinase, protease)를 분리·정제한 많은 연구(박, 1983a; 박, 1983b; 고, 1985; Lee 등, 1989; Eun 등, 1989; Uhm 등, 1991)가 보고되었으며, 특히 이 버섯에 함유된 protease는 타 버섯류(Kawai and Otsuka, 1969; Terashita 등, 1981; Terashita 등, 1985; Terashita and Kono, 1987)에 비하여 매우 높은 단백질분해활성이 있음을 확인(이 등, 2001)할 수 있었으며, 이 효소의 열 안정성에 대한 학문적인 관심도 높아 이 효소

의 생물공학분야에의 응용차원에서 그 가치가 높게 평가되고 있다.

단백질분해효소는 미생물을 배양하거나, 과일의 열매, 동물의 위나 췌장에서 추출하여 제조(Beynon and Bond, 1989; Neurath, 1989)하며, 식육의 가공 및 연화(Lee, 1986), 물고기 sauce의 숙성발효(Suh 등, 1996) 등에 이용되고 있으며, 양조산업(MacGregor, 1996), 조미료산업(Diniz and Martin, 1996; Tavarina 등, 1997), 제과, 생선 및 육류가공 등의 식품산업과 세제에 사용되며, 의약품으로는 소화제, 소염제로 사용되는 등 다양한 용도로 널리 이용되고 있다. 현재는 거의 전량 수입되고 있는데, 그 가운데 특히 육류 외 식품산업의 급증으로 인하여 연육제의 수요가 증가하고 있다.

본 연구에서는 능이버섯 분말 및 능이버섯 protease의 첨가가 고기연육처리시 보수도, 경도 및 색갈변화에 미치는 영향을 구명하고자 실시하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 공시재료

본 실험에 공시한 능이버섯(항버섯, *Sarcodon aspratus*)은 충북대 연습림 및 농협물류센터에서 구입하여, 분말시료는 40°C 이하의 열풍건조기에서 급속 건조시킨 다음, Wiley mill로 20~40 mesh로 분쇄하여 조제한 분말을 4°C에 저온저장하여 사용하였고, protease추출용 시료는 -28°C 이하의 냉동고에서 급속히 냉동시킨 상태로 저장하여 사용하였다. 공시한 protease는 전보(조 및 조, 2004)에서 제제한 조 protease를 사용하였다.

연육시험용 쇠고기는 청주시 농협 하나로마트 식육 판매점에서 구입한 한우고기를 냉동저장하여 사용하였으며, 연육처리효과를 비교하기 위한 대조구로서 설탕은 농협 하나로마트에서 제일제당(주)의 정백당을, 단백질 분해효소로서 Sigma사의 papain (4,400 unit/g)을 구입하여 사용하였다.

2.2. 고기의 연화처리 및 물성의 측정

공시한 쇠고기를 길이 15 mm, 폭 5 mm, 두께 2 mm 되도록 잘라서 능이버섯분말을 중량의 5%, 능이버섯의 protease효소를 0.5% 가하고 25°C에서 60분간 반응시켰다. 대조구로서 설탕 5%, papain 0.5%, 그리고 쇠고기만을 대조구로 사용하였다. 처리시료의 수분함량은 AOAC의 방법(1995)으로 측정, 처리전·후의 함유율로부터 보수도(water retention value, WRV)를 측정하였다.

처리시료의 연화정도를 측정하기 위하여 Rheometer (Sun Rheometer, Compac-100, Japan)를 사용, Load cell 하중 1 kg, 시료길이 15 mm, 측정속도 2 mm/sec로 5회 측정, 평균값을 계산하여 경도를 구하였다.

처리시료의 색깔에 미치는 연육효과를 보기 위하여 Color meter (Minolta, CM 3400, Japan)를 사용하여 Hunter식 색도로 나타냈는데, 명도(lightness, L), 적색도(redness, a), 황색도(yellowness, b) 및 ΔE 값으로 표시하였다.

Table 1. Water retention value of treated beef

L/I	Water retention value, %
Control	60.4
Neungi	
Mushroom powder	70.5
Mushroom protease	76.6
Sugar	67.3
Papain	73.7

3. 결과 및 고찰

3.1 연화처리 시료의 보수력

쇠고기의 근육조직이 함유하고 있는 수분함량은 약 75% 정도이며, 고기의 부드러움은 전체함수율보다 보수력이 더욱 중요하다. 따라서 조리 후 고기조직이 많은 수분을 보유하고 있어야 조직이 부드럽게 느껴지고, 다즙성이 증가되므로서 고기조직이 유연함을 느끼게 된다(송 및 박, 1995). Table 1에서 보는 바와 같이 능이버섯 분말과 protease를 첨가하므로서 처리 시료는 매우 높은 보수력을 나타냈으며, 시판되고 있는 연육제인 papain과 거의 동일한 보수력을 나타냈다. 능이버섯의 protease는 대조구에 비해 26.8%, 설탕에 비해서는 13.8%의 보수력을 증가시켰다. 이러한 보수력 증가는 연육효과에 의하여 단백질의 가수분해가 일어나면서 수용성 성분이 증가되기 때문인 것으로 판단된다.

3.2 연육제처리 고기의 경도특성

고기의 근육은 결합조직 단백질과 근원섬유단백으로 구성되는데, 근원섬유 단백질은 actin, myosin, connectin을 비롯한 200 여종의 단백질로 구성된다(이 등, 2001). 일반적으로 연육제는 단백질분해효소의 작용으로 고기근육의 결합조직이나 근육단백질을 분해하여 근원섬유의 장력을 저하시킴으로써 고기를 부드럽게 해주게 된다(Peleg and Bagley, 1990).

본 실험에서 사용한 능이버섯 분말과 protease의 첨가가 Table 2에서 보는 바와 같이 경도를 감소시키

Table 2. Hardness of treated beef

L/I	Hardness, kg
Control	11.5
Neungi Mushroom powder Mushroom protease	5.56 4.77
Sugar	8.91
Papain	5.02

는 것으로 나타났으며, 시판 연육제인 papain과 거의 동일한 연육효과를 가져왔다. 설탕도 대조구에 비하여 22.5%의 상당한 경도의 감소를 보여주었는데 이는 설탕첨가로 인한 삼투압의 증가로 보수력이 증가되었기 때문으로 생각된다. 능이버섯분말의 첨가로 인한 경도감소 효과는 능이버섯분말이 51.6%, 능이버섯 protease는 58.5%, 시판의 연육제인 papain은 56.3%의 높은 경도감소를 나타냈다.

Takahashi 및 Saito (1979)에 의하면 쇠고기의 숙성중 일어나는 쇠고기근육의 구조변화를 관찰한 결과, 근원섬유에 A-band, I-band, Z-line 및 M-line 등이 있는데, 근원섬유의 파괴는 Z-line과 I-band의 접합점에서 일어나는데, 이는 Z-line과 I-band 사이에 존재하는 gap filament 혹은 connectin이라 불리는 탄성 단백질이 분해되어 근원섬유의 약화를 초래하고, 결과적으로 고기의 연화가 일어난다고 하였다. Park (1986)은 ficin을 처리하였을 때 근원섬유의 myosin이 먼저 분해되었고, actin은 분해가 일어나지 않았다고 보고하였으며, Chae 및 Park (1996)은 배가 함유한 protease가 myosin의 분해를 촉진시켰다고 보고하였다. Youn 및 Yang (1974)도 papain을 이용한 쇠고기의 연육실험에서 이 연육제가 근원섬유의 분해를 촉진시켰으나, collagen이나 elastin 섬유에는 작용하지 않았다고 보고하였다. 이에 대하여 능이버섯의 protease는 시판 연육제인 papain보다도 더 효과적으로 actin, myosin, connectin을 비롯한 근원섬유 단백질을 분해시키는 것으로 보고(이 등, 2001)되고 있다.

3.3 연육제처리 고기의 색도 특성

각 처리의 색도를 측정된 결과를 명도(lightness,

Table 3. Color changes in treated beef

L/I	Color			
	L	a	b	ΔE
Control	45.1	4.88	16.7	0.0
Neungi Mushroom powder Mushroom protease	44.2 47.2	4.24 4.22	15.2 13.5	4.55 2.74
Sugar	46.8	4.01	14.7	2.69
Papain	47.8	4.12	12.3	2.07

L), 적색도(redness, a), 황색도(yellowness, b) 및 ΔE 값으로 Table 3에 표시하였다. L값의 경우 능이버섯 분말첨가는 명도를 감소시켰으나, 능이버섯 protease의 경우 47.2로 높아졌으며, 설탕 및 papain도 protease와 유사한 명도를 나타냈다. 적색도와 황색도의 경우에는 대조구에 비하여 모든 처리에서 낮은 값을 보여주었다.

명도와 적색도 및 황색도로부터 구한 ΔE 값이 0~0.5이면 색차가 거의 없는 것이며, 0.5~1.5는 근소한 색차가 있는 것으로, 1.5~3.0이면 감지할 수 있을 정도의 색차가, 3.0~6.0은 현저한 색차가, 6.0~12는 매우 현저한 색차를, 12 이상이면 다른 색으로 나타내는 것이 일반적이다(송 및 박, 1995). ΔE값에 있어서 능이버섯 분말을 첨가하면 4.55로서 현저한 색차를 보여주었으며, protease, 설탕 및 papain은 2.07~2.74로서 감지할 수 있을 정도의 색차로 나타났다. 능이버섯 분말 첨가가 큰 색차를 결과한 것은 능이버섯이 가지는 색소에 기인하는 것으로서 버섯자체가 요리시 타재료의 색까지도 변하게 하는 자체의 색소때문으로 생각된다.

4. 결 론

본 연구에서는 능이버섯 분말 및 능이버섯 protease의 첨가가 고기연육 및 식품첨가시 색깔변화에 미치는 영향을 구명하고자 실시하였다. 능이버섯 분말과 protease를 첨가하므로써 매우 높은 보수력을 나타냈는 바, 능이버섯의 protease는 무처리에 비해 26.8%, 설탕에 비해 13.8%의 보수력을 증가시켰다.

이러한 보수력 증가는 연육효과에 의하여 단백질의 가수분해가 일어나면서 수용성 성분이 증가되기 때문인 것으로 판단된다.

능이버섯 분말과 protease의 연육효과를 실험한 결과, 소고기의 경도를 감소시키는 것으로 나타났으며, 시판 연육제인 papain과 거의 동일한 연육효과를 가져왔다. 능이버섯의 첨가로 인한 경도감소효과는 능이버섯분말이 51.6%, 능이버섯 protease는 58.5%, papain은 56.3%의 높은 경도감소를 나타냈다. 그 이유로서는 능이버섯의 protease가 actin, myosin, connectin을 비롯한 근원섬유 단백질을 효과적으로 분해를 시키기 때문으로 사료된다.

능이버섯의 첨가가 식품의 색도(명도, 적색도, 황색도 및 ΔE 값)에 미치는 영향을 조사해 본 결과, 버섯의 분말첨가는 명도를 감소시켰으나, protease 첨가의 경우 47.2로 높아졌으며, 설탕 및 papain도 protease와 유사한 명도를 나타냈다. 적색도와 황색도의 경우에는 대조구에 비하여 모든 처리에서 낮은 값을 보여주었다. ΔE 값에 있어서 능이버섯 분말을 첨가하면 4.55로서 현저한 색차를 보여주었으며, protease, 설탕 및 papain은 2.07~2.74로서 감지할 수 있을 정도의 색차로 나타났다. 능이버섯 분말첨가가 큰 색차를 결과한 것은 능이버섯이 가지는 색소에 기인하는 것으로서 생각된다.

참고 문헌

- 고봉경. 1985. 능이버섯의 성분연구. 고려대학교 대학원 석사학위논문.
- 박완희. 1983a. 능이의 성분에 관한 연구(제1보). 한국균학회지 11(2): 85~89.
- 박완희. 1983b. 능이의 성분에 관한 연구(제2보). 한국균학회지 11(4): 159~162.
- 송재철, 박현정. 1995. 식품물성학. 울산대학교 출판부. pp. 428~441.
- 이승이, 송영선, 조정원, 이종호, 조재선. 2001. 능이버섯 첨가가 우육의 물리화학적 및 관능적 특성에 미치는 영향. 한국식품영양과학회지 30(2): 266~272.
- 조남석, 조희연. 2004. 능이사실체의 Protease 활성. 목재공학 32(4): 58~65.
- A. O. A. C. 1995. Official Method Analysis. 16th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C., Vol. 4, pp. 1~2.
- Beynon, R. J. and J. S. Bond. 1989. Proteolytic enzymes, In: Beynon, R. J. and J. S. Bond, J. S. (ed.), A Practical Approach. IRL Press. pp. 1~4.
- Choe, I. S. and Y. J. Park. 1996. A study on the utilization as meat tenderizer from Korean pear protease. Kor. J. Food Sci. Ani. Resour. 16: 89~93.
- Dhandapani, R. and R. Vijayaragavan. 1994. Production of a thermophilic, extracellular alkaline protease by *Bacillus stearothermophilus* AP-4, World. J. Microbiol. Biotechnol. 10: 33~35.
- Diniz, F. M. and A. M. Martin. 1996. Use of response surface methodology to describe the combined effects of pH, temperature and E/S ratio on the hydrolysis of dogfish (*Squalus acantbias*) muscle. J. Food Engin. 31: 419~426.
- Eun, J. S., J. H. Yang, T. K. Lee, and D. S. Choi. 1989. N-terminal amino acid sequence and some properties of proteolytic enzyme from *Sarcodon aspratus* Yakhak Hoeji 33: 339~344.
- Fusek, M., X. L. Lin, and J. Tang. 1990. Enzymic properties of thermopsis. J. Biol. Chem. 265: 1496~1501.
- Kawai, M. and Y. Otsuka. 1969. Screening test of basidiomycetes for the production of proteolytic enzymes and some characterization of crude enzyme. Trans. Mycol. Soc. Japan 10: 29~34.
- Lee, T. K. 1986. Purification and some characterization of the proteolytic enzyme in fruit body of Neungee. J. Kor. Soc. Food Nutr. 15: 276~285.
- Lee, T. K., J. S. Eun, J. H. Yan, D. Y. Jo, and H. C. Yang. 1989. Purification and stability of proteolytic enzyme in *Sarcodon aspratus* J. Kor. Pham. Sci. 19: 81~86.
- MacGregor, A. W. 1996. Malting and brewing science : challenges and opportunities. J. Institute Brewing 102: 97~102.
- Matsuzawa, H., K. Tokugawa, M. Hamaoki, M. Mizoguchi, H. Taguchi, I. Terada, S. T. Kwon, and T. Ohta. 1987. Purification and characterization of aqalysin I (a thermophilic alkaline serine protease) produced by *Thermus aquaticus* YT-1. Eur. J. Biochem. 171: 441~447.
- Matsuzawa, H., M. Hamaoki, and T. Ohta. 1983.

- Production of thermophilic extracellular proteases (aqualysins I and II) by *Thermus aquaicus* YT-1. Agric. Biol. Chem. 47: 25~28.
20. Neurath, H. 1989. The diversity of proteolytic enzymes, In: Beynon, R. J. and J. S. Bond, J. S. (ed.), Proteolytic Enzymes: A Practical approach, ISL Press, pp. 1~4.
 21. Park, Y. K. 1986. Studies on the change of beef and myofibrillar proteins by ficin treatment. M.S. Thesis. Jungang University, Seoul, Korea.
 22. Peleg, M. and E. B. Bagley. 1990. Physical Properties of Foods. Daehan Press, Inc., Seoul. pp. 176~233.
 23. Suh, H. J., S. H. Chung, J. Y. Son, H. K. Lee, and S. W. Bae. 1996. Studies on the properties of enzymatic hydrolysates from file fish (in Korean). Kor. J. Food Sci. Technol. 28: 678~683.
 24. Taguchi, H., M. Hamaoki, H. Matsuzawa, and T. Ohta. 1983. Enzymic properties of caldolyisin. J. Biochem. 93: 7~13.
 25. Takahashi, K. and H. Saito. 1979. Post-mortem changes in skeletal muscle connectin. J. Biochem. 85: 1539~1542.
 26. Tavaría, F. K., M. J. Sousa, A. Domingos, F. X. Malcata, P. Brodelius, A. Clemente, and M. S. Pais. 1997. Degradation of caseins from milk of different species by extracts of *Centaurea calci-trapa*. J. Agri. Food Chem. 45: 3760~3765.
 27. Terashita, T. and K. Oda. 1987. Purification and some properties of carboxyl proteinase from *Tricholoma matsutake*. Trans. Mycol. Soc. Japan 28: 245~256.
 28. Terashita, T., K. Oda, M. Kono, and S. Murao. 1981. Streptomyces pepsin inhibitor insensitive carboxyl proteinase from *Lentinus edodes*. Agric. Biol. Chem. 45(9): 1937~1943.
 29. Terashita, T., K. Oda, M. Kono, and S. Murao. 1985. Proteinase systems in *Flammulina velutipes* and *Pleurotus edodes*. Trans. Mycol. Soc. Japan 26: 397~409.
 30. Tsuchiya, K., Y. Nakamura, H. Sakashita, and T. Kimura. 1992. Purification and characterization of a thermostable alkaline protease from alkalophilic *Thermoactinomyces* sp. HS-682, Biosci. Biotechnol. Biochem. 56: 246~250.
 31. Uhm, T. B., K. S. Ryu, M. K. Kim, J. S. Yoo, H. S. Sohn, and T. K. Lee. 1991. Characterization of serine protease from Neungee (*Sarcodon aspratus*). J. Kor. Soc. Food Nutr. 20: 35~39.
 32. Youn, J. E. and R. Yang. 1974. Studies on the aging of beef at adding the proteolytic enzyme. IV. Studies on the tenderness effect of beef by papain treatment. Kor. J. Food Sci. Technol. 6: 163~167.