



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2008-0098764
(43) 공개일자 2008년11월12일

(51) Int. Cl.

A23L 1/318 (2006.01) A23L 1/31 (2006.01)

A23L 1/314 (2006.01) A23L 1/28 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2007-0044027

(22) 출원일자 2007년05월07일

심사청구일자 2007년05월07일

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울 성북구 안암동5가1 고려대학교 내

(72) 발명자

김병철

서울 중구 신당동 844 남산타운아파트 13동 902호

김호경

서울시 광진구 노유2동 55-8 302호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

이문섭, 윤여강

전체 청구항 수 : 총 7 항

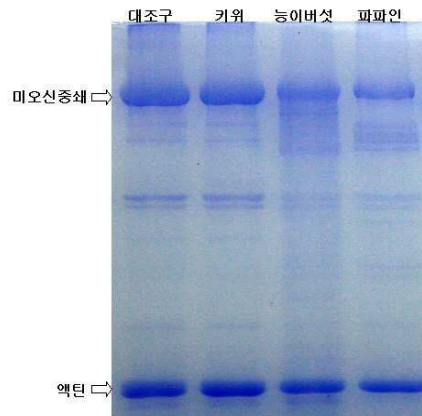
(54) 능이버섯 추출물을 이용하는 우육의 연도증진방법

(57) 요약

본 발명은 능이버섯 추출물을 이용하는 신선우육의 연도증진방법에 관한 것으로, 더욱 구체적으로 능이버섯으로부터 단백질분해효소를 포함하는 능이버섯추출액을 추출하는 단계, 상기 능이버섯추출액을 신선우육에 처리하는 단계 및 상기 처리된 신선우육을 냉장온도에서 숙성시키는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 신선우육의 연도증진방법에 관한 것이다.

본 발명에 따르면, 우육의 연도증진방법에 있어서 종래의 물리적인 처리방법이나 과일유래 분말 단백분해효소와 달리 본 발명의 능이버섯추출물에 포함된 단백분해효소가 우육의 연도에 큰 영향을 미치는 미오신의 분해에 탁월한 효과가 있음을 확인하였고, 이를 이용한 신선우육의 연도증진방법을 발명하였다. 본 발명의 능이버섯추출물을 이용하여 우육의 근육구조 및 연도에 영향을 미치는 미오신의 분해를 증가시킬 수 있으며, 따라서 연도가 크게 증가된 우육을 소비자에게 제공할 수 있을 것으로 기대된다.

대 표 도 - 도1



(72) 발명자

신한결

경기도 성남시 분당구 수내동 양지마을 한양아파트
525동 505호

최영민

서울시 광진구 자양동 632-29 12/8

이상훈

경기도 안양시 만안구 안양3동 911-18

특허청구의 범위

청구항 1

능이버섯으로부터 단백질분해효소 활성을 갖는 능이버섯추출액을 추출하는 단계, 상기 추출액을 우육에 처리하는 단계 및 상기 처리된 우육을 냉장온도에서 숙성시키는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 우육의 연도증진 방법.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 능이버섯추출액은 단백분해효소에 대한 비과괴적인 방법을 이용하여 추출하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 3

제 2항에 있어서, 상기 능이버섯추출액은 능이버섯을 증류수에 넣고 냉장온도에서 5~10시간 보관한 후, 5000~7000 rpm에서 10~15초간 균질화하고, 원심분리 및 여과를 이용하여 추출하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 4

제 1항에 있어서, 상기 냉장온도에서의 숙성은 0~7 ℃에서 36~60시간 숙성하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 5

제 1항에 있어서, 능이버섯추출액의 단백분해효소 활성에 의해 우육의 연도를 증가시키는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 6

제 5항에 있어서, 상기 단백분해효소의 활성은 우육의 미오신 중쇄 (myosin heavy chain, MHC)를 분해하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 7

능이버섯 추출물을 유효성분으로 함유하는 우육 연화제.

명 세 서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

- <3> 본 발명은 능이버섯 추출물을 이용하는 신선우육의 연도증진방법에 관한 것으로, 더욱 구체적으로 능이버섯으로부터 단백질분해효소를 포함하는 능이버섯추출액을 추출하는 단계, 상기 능이버섯추출액을 신선우육에 처리하는 단계 및 상기 처리된 신선우육을 냉장온도에서 숙성시키는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 신선우육의 연도증진방법에 관한 것이다.
- <4> 최근 국내 식품 소비 형태를 볼 때 소비자 선호도는 기존의 양적인 측면에서 벗어나 품질을 고려된 식단으로 변화하고 있으며, 신선육과 양념육의 소비도 육질이 향상된 고급육의 소비수요가 증가하는 추세이다. 식육의 연도는 국내외 소비자들이 관능평가 시 가장 중요하게 고려하는 육질 항목 중 하나이다. 식육의 연도를 증진시키기 위해 쓰이는 식물성 연육제로 파파인 (papain), 브로멜린 (bromelain), 피신 (ficin) 등이 널리 이용되고 있다. 현재 국내에서는 과일에서 단백분해효소를 추출·정제해 생산한 분말형태의 연육제를 대부분 수입하여 사용하고 있는 실정이다.
- <5> 능이버섯 (*Sarcodon aspratus* (Berk) S. Ito)은 9~10월에 한국 및 일본의 활엽수림 부석이 많은 산지에 자생하며, 균모의 직경은 15~20 cm 크기의 식용 버섯이다. 국내에서 생산되는 50~60톤 (1년)은 대부분 수출하고 있으며, 타 버섯에 비해 높은 부가가치로 인해 산촌민의 소득안정에 기여하고 있는 품종으로 예로부터 육류를 먹고

체했을 때 단방약으로 이용되어져 왔다. Mizuno 등 (2000)의 문헌(Immunopharmacology, 46권, 113-121)의 연구 결과에 따르면 능이버섯의 다양한 생리활성기능이 밝혀지고 있으며, 능이버섯은 최근 소비자들의 관심인 건강위주의 식단에 부합되는 건강기능성이 확보된 식품이다. 능이버섯의 수분함량은 표고버섯보다는 높고 느타리버섯과 비슷한 수준이며 탄수화물 함량은 표고버섯과 느타리버섯보다 낮았고 조단백질, 조지방 및 회분의 함량은 표고버섯과 느타리버섯의 경우보다 많다 (이숙희 등, 2003; 능이버섯의 영양성분에 관한 연구. 한국식품저장유통학회지, 10:65-69). 능이버섯의 주요 유리당은 포도당 (glucose), 자당 (sucrose), 트레할로스 (trehalose), 크실로오스 (xylose)로 구성되어 있으며, 트레할로스의 함량이 가장 높다. 또한 생체반응에 관여하고 생명 유지의 필수 성분인 아미노산을 다량 함유하고 있으며, 이중 필수아미노산인 발린 (valine), 류신 (leucine), 트레오닌 (threonine), 리신 (lysine)의 함량과 비필수아미노산인 알라닌 (alanine), 글리신 (glycine), 아스파르트산 (aspartic acid), 글루탐산 (glutamic acid) 등의 함량이 풍부하다. 활성산소의 제거를 도와주고, 과산화물의 분해를 촉진하는 비타민 C도 두릅, 취나물, 호박순 보다 많은 양을 함유하고 있다. 무기질 함량은 칼륨, 나트륨이 매우 풍부할 뿐 아니라 마그네슘, 칼슘 등 각종 무기질 함량이 높으며, 유해 활성산소 저해에 관여하는 아연, 망간, 구리를 다량 함유하여 항산화작용이 있을 것으로 보고되었다.

<6> 국내에서는 한우, 젓소 및 육우가 신선우육으로 유통되고 있다. 소비자 관점에서 신선우육의 품질평가 시 가장 중요하게 평가되는 항목은 연도라고 할 수 있으며, 연도가 떨어지는 우육의 경우 소비자의 선호도 및 기호도가 떨어진다. 근육 (식육)은 결합조직 단백질로 감싸인 근섬유들이 평행으로 배열된 구조를 가진다. 따라서 신선우육의 연도는 근섬유와 결합조직의 구조적 변이 및 화학적 조성의 변이로 인해 다양한 연도의 차이를 나타낸다. 연도를 증가시키는 방법으로는 물리적인 처리방법 및 연육제를 첨가하는 방법이 있는데, 물리적인 처리방법의 경우 효과가 우수하지만 시설의 초기 투자비, 유지비 및 노동력 등의 제약을 받는 단점이 있다. 연육제를 이용하여 연도를 증진시키는 방법은 식물성 단백분해효소를 이용하며, 이와 같은 경우 추출, 정제를 거친 분말을 주로 이용한다. 분말 단백분해효소를 이용하는 방법은 이용이 간편하지만, 대부분의 단백분해효소는 근육단백질의 45%를 차지하며 근육구조 및 연도에 영향을 미치는 미오신의 분해에는 큰 영향을 미치지 못하며, 또한 시판중인 분말형태의 단백분해효소 이용 시 건강기능성 증대효과는 기대하기 힘든 단점이 있다.

<7> 이에, 본 발명자들은 상기 종래기술들의 문제점들을 극복하기 위하여 예의 연구노력한 결과, 우육의 연도증진방법에 있어서 능이버섯 추출물을 이용하는 경우, 우육의 근육구조 및 연도에 영향을 미치는 미오신의 분해를 증가시킬 수 있음을 확인하고, 본 발명을 완성하게 되었다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

<8> 따라서, 본 발명의 주된 목적은 미오신의 분해에 뛰어난 효과가 있는 단백분해효소 활성을 갖는 능이버섯추출물을 이용한 우육의 연도증진방법을 제공하는 데 있다.

<9> 본 발명의 다른 목적은 상기 능이버섯추출물을 유효성분으로 함유하는 우육 연화제를 제공하는데 있다.

발명의 구성 및 작용

<10> 본 발명의 한 양태에 따르면, 본 발명은 능이버섯으로부터 단백질분해효소 활성을 갖는 능이버섯추출액을 추출하는 단계, 상기 능이버섯추출액을 우육에 처리하는 단계 및 상기 처리된 우육을 냉장온도에서 숙성시키는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 우육의 연도증진방법을 제공한다.

<11> 본 발명의 방법에서, 상기 능이버섯추출액은 가열에 의한 열수추출 또는 알코올과 같은 친수성 유기용매에 의한 용매추출 등을 포함한 어떠한 방법으로도 추출할 수 있으나, 열과 유기용매에 약한 생리활성성분 및 단백분해효소의 파괴를 최소화하기 위해서는 균질화 및 여과와 같은 비파괴적인 방법을 이용하여 추출하는 것이 바람직하다.

<12> 본 발명에 있어서, 상기 능이버섯추출액은 능이버섯을 증류수에 넣고 냉장온도에서 5~10시간 보관한 후, 5000 ~ 7000 rpm에서 10 ~ 15초간 균질화하고, 원심분리 및 여과를 이용하여 추출하는 것을 특징으로 한다. 본 발명의 실시예에서는 4℃, 7시간 이상 보관한 후 6000 rpm에서 12초간 균질화한 추출액을 사용하였다.

<13> 본 발명의 방법에서, 상기 냉장 온도에서의 숙성은 냉장온도에서 36 ~ 60시간동안 신선우육을 숙성시키는 것을 특징으로 하며, 바람직하게는 4℃에서 48시간 숙성시키는 것이 우육의 연도를 증진시키는 데 좋다.

<14> 본 발명의 방법에서, 바람직하게는 능이버섯추출액의 단백분해효소 활성에 의해 우육의 연도를 증가시키는 것을 특징으로 한다. 식육의 연도를 증가시키는 방법으로는 온도처리, 전기자극 또는 현수방법 등의 물리적인 처리방

법과 파파야, 파인애플, 키위, 무화과 등 식물 추출물의 단백분해효소를 이용하는 방법이 알려져 있으나, 물리적인 처리방법의 경우 효과가 우수하지만 시설의 초기 투자비, 유지비 및 노동력 등의 제약을 받는 단점이 있다. 또한, 기존 식물 추출물은 단백효소활성이 그다지 높지 않아 연도 개선효과가 현저하지 못하다는 단점이 있다. 따라서 본 발명의 능이버섯추출물은 물리적인 방법에 비교할 때 용이하게 사용할 수 있을 뿐만 아니라, 기존 식물추출물을 이용한 방법 특히, 상업적으로 사용되고 있는 파파인과 비교할 때 단백분해효소활성이 월등히 높은 것으로 확인되었으며 육색, 보수력, 가열 감량, 전단력, 단백질 용해도 등 육질 측정 항목들에서 유사하거나 현저히 뛰어난 효과가 있는 것으로 확인되었다 (표 2 참조).

<15> 본 발명에 있어서, 상기 단백분해효소의 활성은 우육의 미오신 중쇄 (myosin heavy chain, MHC)를 분해하는 것을 특징으로 한다. 본 발명의 실시예에서는 상기 단백분해효소가 근원섬유단백질을 분해하고 (도 1참조), 근원섬유단백질 중 근육단백질의 45%를 차지하며 근육구조 및 연도에 영향을 미치는 미오신의 분해효과가 뛰어난 것을 확인하였다 (도 2참조). 도 2에서는 본 발명의 능이버섯추출물에 포함된 단백분해효소가 미오신 중쇄의 소편화에 영향을 미치며, 근원섬유단백질 용해도 감소와 더불어 미오신 중쇄의 분해에 의해 더욱 향상된 연도증진효과를 나타내는 것으로 판단할 수 있다.

<16> 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 능이버섯추출물을 유효성분으로 함유하는 우육 연화제를 제공한다.

<17> 본 발명의 우육연화제는 국내에서 자생하는 천연 능이버섯의 추출액 내에 포함된 단백분해효소의 활성을 이용하는 것으로, 본 발명에 사용된 능이버섯은 약리작용이 뛰어난 식용버섯으로 알려져 있다. 따라서 본 발명의 실시예에서는 우육의 연도 증진효과 및 육질변이를 다각적으로 분석하여 그 효과를 확인하였으며, 능이버섯의 기능성이 부여된 우육연화제로써 사용될 수 있음을 확인하였다.

<18> 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하기로 한다. 이들 실시예는 단지 본 발명을 예시하기 위한 것이므로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지는 않는다.

<19> 실험재료

<20> 실험에 필요한 시료는 국내에서 정상 유통되는 냉장우육 중 등심근을 사용하였다. 능이버섯은 건조 유통되는 제품을 구입하여 시험에 사용하였으며, 키위 (뉴질랜드산)는 국내 대형마트에서 정상 유통되고 있는 것을 사용하였다. 또한 파파인의 경우 정제된 효소로 판매되고 있는 제품 (76220, Sigma-Aldrich Co., USA)을 실험에 사용하였다. 본 발명에 사용된 1 내지 2% 추출물들은 우육 100g에 대한 중량%를 나타낸다.

<21> 실시예 1. 능이버섯으로부터 단백분해효소를 포함한 추출액의 제조

<22> 능이버섯의 우수한 연도증진 효과를 비교분석 하기 위해 정제된 효소로 판매되고 있는 파파인 (76220, Sigma-Aldrich Co., USA)과 식육의 연화효과가 뛰어난 것으로 알려져 있어 가정과 식당에서 조리 시 이용되는 키위를 이용하였다. 능이버섯의 단백질분해효소 및 생리활성물질의 비파괴적인 추출을 위해 시료를 2 g 칭량하여 15 ml 증류수에 넣고 효소가 쉽게 용출될 수 있도록 7시간 이상 저온상태 (4℃)에 보관한 후 균질 (6,000 rpm, 12 sec; Ace Homogenizer AM-8, Nissei Co., Japan)하였다. 균질 후 원심분리 (10,000× g, 4℃, 20 min)하였으며, 원심분리 후 상등액을 Whatman #2 (지름 110mm)를 이용하여 여과시켜 단백질분해효소 및 생리활성물질을 추출하였다. 키위도 같은 방법을 이용하여 단백질분해효소를 용출하였고, 파파인은 2차 증류수에 용해시켜 사용하였다. 대조구는 2차 증류수를 사용하였다.

<23> 실시예 2. 능이버섯 및 키위 추출액 및 파파인의 신선우육에의 처리

<24> 등심근 100 g을 일정한 크기 (정육각형)로 자른 후, 실시예 1의 방법으로 얻은 2% 능이버섯추출액, 2% 키위추출액 및 0.2% 파파인 첨가액 15 ml과 함께 공기가 통하지 않는 polyethylene bag에 침지하였다. 등심근은 4℃에서 48시간 침지 한 후 각각의 추출액 및 첨가액내의 식물성 단백분해효소에 따른 우육의 육질변화를 분석하였다. 능이버섯, 키위의 추출액 및 파파인 처리구의 육질은 48시간 침지 한 후 측정하였으며, 대조구의 경우 2차 증류수에 48시간 침지 한 후 실험에 이용하였다. 육질변이 측정항목으로는 pH, 육색, 보수력, 가열감량 및 전단력을 측정하였다. 단백질 용해도 측정 및 단백질 전기영동에 필요한 시료는 48시간 침지 후 시료들의 안정성을 위해 액체질소에 침지한 후, -80℃이하의 deep freezer에 보관하였으며, 수일 내 실험을 실시하였다.

<25> 실시예 3. 효소활성도 측정

<26> 능이버섯추출액 내에 포함된 단백질분해효소를 확인하기 위해 효소활성도를 측정하는 실험을 수행하였다. 1%와 2% 능이버섯추출액, 2% 키위추출액 및 0.2% 파파인 효소의 효소활성도는 Hiizu (1995)(Food Research

International, 28권, 31-36)의 방법을 이용하였다. 효소활성도 측정은 2 mM CaCl_2 -0.2 M Tris-HCl (pH 7.5) 용액 1 ml에 10 mg의 카제인과 추출액 1 ml를 넣어준 후 35℃에서 60분간 배양시킨 후 2 ml의 5% (w/v) 트리클로로아세트산을 첨가하여 반응을 중지시킨 후 원심분리 (5,500× g, 4℃, 30분)하였다. 이 후 상등액을 분광광도계 (DU 650, Beckman, USA)를 이용하여 280 nm에서 흡광도를 측정하였다. 흡광도 측정 후 60분간 35℃에서 배양 후 다시 280 nm에서 흡광도를 측정하였다. 흡광도의 효소활성도는 흡광도 수치가 0.1 증가했을 때 활성도를 1 unit으로 정의하였으며, 이를 이용하여 각각의 효소활성도를 계산하였다. 능이버섯 추출물 2%를 이용하여 효소활성도를 측정한 결과 가장 높은 683.2 unit/ml로 나타났으며, 2% 키위 추출액의 경우 0.68 unit/ml, 0.2% 파파인의 경우 146.33 unit/ml로 나타났다. 본 발명 실험 결과 정제되어 시판되는 단백질분해효소로서, 일반적인 단백질분해효소의 기준이 되는 0.2% 파파인 효소에 비해서도 약 4.6배 높게 나타났다. 결과는 하기 표 1에 나타내었다. 이러한 효소활성도 비교는 Naveena 등 (2004)의 문헌 (Meat Science, 68권, 363-369)에서의 실시 방법에 의한 것으로, 이 문헌에서는 쿠쿠미 (cucumis) 단백분해효소 2% (w/w) 추출액의 연육효과를 확인하기 위해 파파인 0.2% (w/w) 용액과 비교하였으며, 본 발명에서는 상기 0.2% 파파인 용액을 단백분해효소의 연육작용을 비교하기 위한 일반적인 %로써 사용하였다.

[표 1]. 능이버섯추출액, 키위추출액 및 파파인의 효소활성도 측정

	능이버섯 추출액		2% 키위 추출액	0.2% 파파인	유의 수준
	1%	2%			
Unit/ml	341.6 ^b	683.2 ^a	0.68 ^d	146.3 ^c	***

유의수준: *** $P < 0.001$.

^{a-d} 표시가 다른 것은 통계적으로 유의차가 있음 ($P < 0.05$).

실시예 4. 능이버섯추출액을 이용한 우육의 연도증진효과 분석

1) pH 측정

48시간 침지 후 pH는 액체질소에 침지된 우육을 꺼내 waring blender (HGB150, Christison Ltd., England)를 이용하여 분말로 만든 후, 5 g을 취하여 증류수 20 ml와 혼합한 후 균질(6,000 rpm, 40 sec; Ace Homogenizer AM-8, Nissei Co., Japan)하였다. 5분간 정지한 후 이동성 pH 측정기(Model 290A, Orion Research Inc., USA)로 측정하였다.

2) 육색 측정

육색의 경우 색도계 (CR-300, Minolta Camera Co., Japan)를 백색판으로 표준화 ($C: Y = 91.7, x = 0.3138, y = 0.3200$)시킨 다음 대조구, 능이버섯, 키위 및 파파인 처리구의 명도(L*), 적색도(a*), 황색도(b*)를 측정하였다.

3) 보수력 측정

보수력 측정방법은 Hamm과 Deatherage(1960)의 문헌(Food Research, 25권, 587)의 실험방법을 변형하여 이용하였다. 침전이 끝난 10 g의 시료를 균질기 (7727-40, Pyrex, USA)를 이용하여 분쇄한 후 0.6 M 염화나트륨 15 ml를 넣고 1분간 균질시켰다. 이후 4° C에서 15분간 방치한 후 다시 균질 후 원심분리 (3,000× g, 4℃, 25분)하였다. 원심분리 후 상등액의 부피를 측정한다. 보수력은 첨가한 염화나트륨 15 ml에서 상등액의 부피를 뺀 값에 10을 곱한 값으로 정의하였다.

4) 가열감량 측정

가열감량은 시료를 일정한 모양과 일정한 중량 (50 ± 5 g)으로 절단하여 공기가 통하지 않는 투명비닐에 넣어 80℃의 항온수조에서 심부온도가 75℃가 될 때까지 가열하였다. 이후 시료를 항온수조에서 꺼낸 후 식히고, 냉각조건 (4℃)에서 평형을 이룰 때까지 방치하였다. 투명비닐에서 꺼낸 시료는 표면의 수분을 압지로 빨아들이고 무게를 측정한 후, 가열을 통해 최초 무게에서 손실된 함량을 %로 표시하였다.

<39> 5) 전단력 측정

<40> 전단력 측정은 가열감량을 확인한 시료를 근섬유와 평행하게 두께와 직경이 10 mm와 50 mm가 되도록 절단하고, Instron (Series IX, Instron Corp., USA)를 이용하여 전단력을 측정한다. 분석조건으로는 기록지 이동속도 (chart speed)를 120 mm/min, 파괴 하중 (maximum load)는 10 kg, 측정 속도는 20 mm, 시료 높이 20 mm, adapter No.4로 측정하였다.

<41> 상기 분석실험들의 결과는 하기 표 2에 나타내었다.

<42> [표 2]. 능이버섯과 키위 추출물 및 파파인 처리 시 우육의 육질변화

	대조구	능이버섯	키위	파파인	유의수준
산도 (pH)	5.52	5.51	5.53	5.45	없음
명도	39.13 ^{ab}	40.22 ^a	37.36 ^b	40.12 ^a	*
적색도	22.49 ^a	18.29 ^b	21.09 ^a	22.23 ^a	**
황색도	12.55 ^{ab}	11.63 ^{bc}	11.33 ^c	12.82 ^a	**
가열 감량 (%)	37.21 ^c	41.13 ^b	37.30 ^c	50.52 ^a	***
보수력 (%)	22.33 ^a	70.00 ^b	26.33 ^a	62.67 ^b	*
연도 (N)	93.90 ^a	71.50 ^b	84.10 ^{ab}	70.10 ^b	*

유의수준: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

<43> ^{a-c}표시가 다른 것은 통계적으로 유의차가 있음 ($P < 0.05$).

<44> 식육의 연도는 소비자들의 관능평가 시 중요하게 고려하는 육질 항목이다. 능이버섯추출물에 포함된 단백질분해 효소가 신선육에 미치는 영향에 대해서 알아보기 위하여 연도의 변화와 함께 육질의 변화를 분석하였다. 연도를 나타내는 기계적인 수치인 전단력의 경우, 대조구와 뚜렷한 차이를 보여준 능이버섯 처리구가 키위 처리구에 비해 유의적인 차이를 나타내지는 않았지만 상대적으로 낮은 수치를 나타냈다 (71.50 vs. 84.10 N). 상업적으로 판매되는 효소인 파파인 처리구와는 뚜렷한 차이를 나타내지 않아 능이버섯추출물의 단백분해효소의 강한 활성이 연도에 영향을 미치는 것으로 분석되었다 (71.50 vs. 70.10 N).

<45> 육조직의 수분함량은 약 75% 정도이며, 육질의 연한 정도는 수분의 전체 함수율보다 근육이 수분을 보유할 수 있는 능력인 보수력이 더 중요하다. 식육의 보수력 차이는 저작 시 조직의 부드러운 정도와 다즙성에 영향을 주는데, 일반적으로 높은 보수력을 지닌 식육은 저작 시 유연함을 느끼게 된다. 능이버섯추출물에 포함된 단백분해효소의 첨가는 우육의 보수력에 영향을 미치는데, 본 실시예에서도 능이버섯추출물 처리구의 보수력이 대조구 및 키위 처리구와 뚜렷한 차이를 나타냈으며 (70.00 vs. 22.33 vs. 26.33%), 파파인 처리구와는 유사한 결과를 나타냈다. 따라서 능이버섯추출물을 이용하여 우육을 4°C에서 48시간 숙성하였을 경우 연도의 뚜렷한 증가와 함께 보수력의 증가로 인하여 관능적인 특성이 향상되었음을 확인하였다.

<46> **실시예 5. 능이버섯추출액을 신선우육에 첨가 시 근단백질의 변화**

<47> 능이버섯과 키위의 식물성 단백분해효소 및 파파인의 단백분해능력을 분석하기 위해 단백질 용해도를 측정하였다. 실험을 위한 시료처리 및 실험방법은 Warner 등(1997)의 문헌(Meat Science, 45권, 339-352)의 방법을 이용하였다. -80°C에 보관되어 있는 시료를 꺼내 waring blender (HGB150, Christison Ltd., England)를 이용하여 분말로 만들었다. 총 단백질 용해도는 1 g의 시료에 20 ml의 1.1 M 요오드칼륨/0.1 M 인산완충용액 (pH 7.2), 근형질 단백질 용해도는 1 g의 시료에 10 ml의 0.025 M 인산완충용액 (pH 7.2)의 용액과 혼합한 후 균질 (6,000 rpm, 12 sec; Ace Homogenizer AM-8, Nissei Co., Japan)하였다. 균질 후 4°C에서 24시간 동안 보관한 후, 원심분리 (1,500× g, 4°C, 20 min)하였다. 이후 상등액을 뷰렛 방법을 이용하여 분광광도계 (DU 650, Beckman, USA) 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 근원섬유 단백질 용해도는 총 단백질 용해도에서 근형질 단백질 용해도의 차를 이용하여 변성정도를 확인하였다. 결과는 하기 표 3에 나타내었다.

<48> [표 3]. 능이버섯과 키위 추출물 및 파파인 처리 시 단백질 용해도

	대조구	능이버섯	키위	파파인	유의수준
단백질용해도 (mg/ml)					
총 단백질	165.92 ^a	159.30 ^{ab}	156.88 ^{ab}	149.78 ^b	*
근형질 단백질	42.77 ^b	56.92 ^a	39.57 ^b	58.40 ^a	***
근원섬유 단백질	123.15 ^a	102.39 ^b	117.31 ^a	91.37 ^c	***

유의수준: * P < 0.05, *** P < 0.001.

<49> ^{a-c}표시가 다른 것은 통계적으로 유의차가 있음 (P < 0.05).

<50> 신선육에 능이버섯추출물을 2% 첨가하여 4℃에서 48시간 숙성하였을 경우 우육의 단백질 분해정도를 분석하기 위해 총 단백질, 근형질 단백질, 근원섬유 단백질 용해도를 측정하였다. 대조구의 총 단백질 함량은 능이버섯추출물 처리구와 키위추출물 처리구간에 유의적 차이를 나타내지 않았지만, 파파인 처리구와는 유의적 차이를 나타냈다. 능이버섯 처리구의 근형질 단백질 용해도는 파파인 처리구와 뚜렷한 차이를 나타내진 않았지만 (56.92 vs. 58.40 mg/ml), 대조구에 비해서는 높은 수치를 나타냈다 (56.92 vs. 42.77 mg/ml). 근원섬유 단백질 용해도에서는 능이버섯 처리구는 대조구 (102.39 vs. 123.15 mg/ml)와 키위 처리구 (117.31 mg/ml)에 비해서 낮은 수치를 나타냈다. 파파인 처리구의 낮은 총 단백질 용해도는 근형질 단백질보다 근원섬유 단백질의 분해와 연관성이 크며, 능이버섯의 경우에서도 이와 유사한 경향을 보였다.

<51> **실시예 6. 능이버섯추출액을 신선우육에 첨가 시 미오신 중쇄 분해 확인**

<52> 미오신 중쇄 단백질 (Myosin Heavy Chain, MHC)은 근원섬유 단백질에 속하는 단백질이므로. 근원섬유 단백질의 분석을 위한 단백질 전기영동 방법을 이용하여 실험을 실시하였다 (SE 260, Hoefer Pharmacia Biotech Inc., USA). Gel 구성은 Stacking gel 4%, separating gel 10%를 사용하였다. 근원섬유 단백질 시료는 lane 당 시료 10 μg을 분주하였으며, running buffer는 Laemmli (1970)의 문헌 (Nature, 227권, 680-685)방법을 변형하여 upper running buffer (0.1M tris, 0.15M glycine, 0.15% SDS)와 lower running buffer (0.025M tris, 0.2M glycine, 0.1% SDS)를 구분하여 제조 사용하였다. 전기영동의 실행조건은 4℃에서 전류를 40 mA로 고정하고 2시간 동안 전기영동 하였다. 겔 (Gel)의 염색은 0.05% Coomassie blue R-250(w/v), 40% 메탄올과 7% 아세트산을 이용하여 상온에서 약 2시간 동안 충분히 염색되도록 실시하였고, 탈색은 40% 메탄올과 7% 아세트산을 이용하여 2회 실시하였다. 실험을 통해 관찰된 근원섬유 단백질의 겔 이미지 촬영은 Kodak DC290 (Eastman Kodak Company, USA)으로 실시하였으며, 겔 이미지 분석은 Kodak 1D Image Analysis Software (Eastman Kodak Company, USA)를 이용하였다.

<53> 단백질 전기영동을 이용하여 근육구조 및 연도에 영향을 미치는 미오신중쇄를 관찰해 본 결과, 능이버섯추출물 처리구는 대조구에 비해 분해정도가 큰 것으로 나타났으며, 키위추출물 처리구에 비해서도 분해정도가 컸다. 파파인 처리구와 비교해 보았을 때 능이버섯추출물 처리구는 분해정도가 비슷하게 나타났다 (도 2). 이와 같이 능이버섯추출물에 포함된 단백분해효소는 근원섬유 단백질 분해정도에 영향을 미치며, 근원섬유단백질 중 근육구조의 중요한 역할을 담당하고 있는 미오신 중쇄의 소편화에 영향을 미치며, 이것은 능이버섯 처리구의 연도와 연관성이 있다고 판단된다. 근원섬유단백질 용해도 감소와 단백질 전기영동을 이용한 미오신 중쇄의 분해의 확인을 통해 능이버섯으로부터 추출한 단백분해효소가 신선육의 근단백질에 영향을 줌으로써 연도가 향상됨을 보여준다 (도 1).

발명의 효과

<54> 이상 설명한 바와 같이, 본 발명에 따르면 기존의 연도증진을 위해 쓰이는 연육제의 경우 근육을 이루는 구성단백질의 분해정도가 낮으며, 건강 기능적인 측면을 기대하기 힘들었으나, 본 발명에서 새롭게 제시하는 비파괴적 방법을 통해 능이버섯의 단백분해효소 및 생리활성물질을 추출하여, 신선우육의 질량대비 2% 추출용액 첨가 후 저온상태에서 숙성하면, 연도의 뚜렷한 증가효과를 가져올 수 있을 뿐 아니라 식품산업에 이용 시 영양적인 가

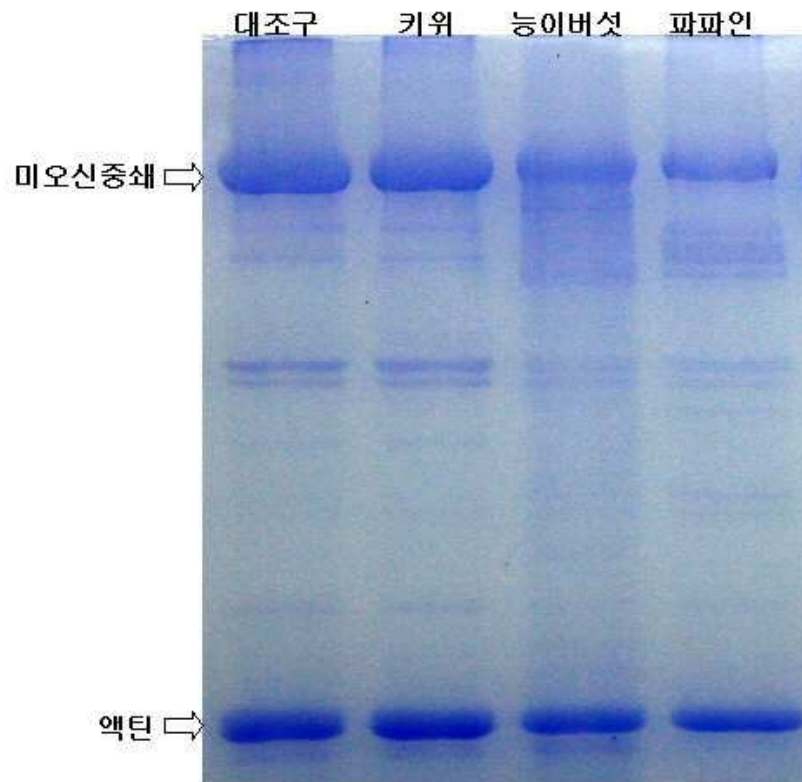
치가 우수하며 건강기능성이 확보된 고품질 신선우육의 제조가 가능하다. 또한, 연도가 떨어져 소비자의 선호도가 떨어지는 우육의 관능적 특성을 증가시킬 수 있어 관련 산업의 수익성 증대에서 효과를 줄 수 있다.

도면의 간단한 설명

- <1> 도 1은 능이버섯추출물, 키위추출물 및 파파인 처리에 의한 근원섬유 단백질의 변화를 단백질 전기영동 실험을 이용하여 나타낸 사진이다.
- <2> 도 2는 능이버섯추출물, 키위추출물 및 파파인 처리에 의한 근원섬유 단백질인 미오신 중쇄의 변화를 단백질 전기영동 사진 명암도의 정도로 분석한 결과이다.

도면

도면1



도면2

