

나노리포솜으로 코팅된 Hemicellulase가 당근의 연화작용에 미치는 효과

김광일 · 조연지¹ · 김수진 · 서재희 · 민상기¹ · 조형용² · 신정규³ · 최미정*

전국대학교 생명자원식품공학과, ¹전국대학교 바이오산업공학과
²차의과학대학교 식품생명공학과, ³전주대학교 한식조리학과

Effect of Liposome Coated Hemicellulase on Softening of a Carrot

Kwang-Il Kim, Yeon-Ji Jo¹, Soojin Kim, Jae-Hee Seo, Sang-Gi Min¹,
Hyung-Yong Cho², Jung-Kue Shin³, and Mi-Jung Choi*

Department of Bioresources and Food Science, Konkuk University

¹*Department of Bioindustrial Technologies, Konkuk University*

²*Department of Food Science and Biotechnology, CHA University*

³*Department of Korean Cuisine, JeonJu University*

ABSTRACT

The objective is to investigate effect of liposome coated hemicellulose on softening of carrot. To encapsulate hemicellulose in nanoliposome, 2% hemicellulase and 2% lecithin were processed by using high-speed homogenizer (10,000 rpm, 3 min) and ultrasonification (200 W, 54%). The carrot were cut into cylinder type (3×1 cm) and then immersed in distilled water (DW, control), hemicellulase (He) and nanoliposome coated hemicellulase (He/NL) for 48 h at 4°C. The final concentration of hemicellulose is 1% (w/v). The droplets properties of He, NL, He/NL analyzed using zeta-sizer. Moreover, the carrots treated different immersed solutions were characterized by measuring hardness, color, microstructural observation and enzyme activity (glucose contents). For the results, hardness of carrot immersed in He or He/NL solution decreased after 48 h by 47% or 31% (outline of carrot) and 35% or 31% (center of carrot) respectively compared to control (7,240 g). The total color difference value of all samples increased over immersion time. For microstructural observation, cell was destroyed after 24 h at He solution. For the enzyme activity, glucose contents of carrot in He solution increased than it in He/NL at 0 h sample however the enzyme activity was no significant difference with immersion time.

Key words: hemicellulase, liposome, encapsulation, softening, texture

서 론

최근 우리나라는 생활수준의 향상과 더불어 보건의료 기술의 발달로 노인인구가 급격히 증가하고 있다. 일반적으로 의·약학분야에서 노인을 일컬을 때는 65세 이상을 뜻하고 있으며, 통계청 자료에 의하면 우리나라의 평균 수명은 연간 0.5세씩 증가할 만큼 큰 상승률을 보이고 있다(Kang & Kim, 2005; Korean Statistical Information Service, 2013). 2015년 경제협력개발기구(OECD) 발표에 의하면, OECD 회원국의 남녀기대수명 격차는 에스토니아, 폴란드, 슬로바키아, 헝가리 다음으로 5위를 차지하고 있으며,

2013년 태어난 한국 아이를 기준으로 우리나라 국민의 평균 기대수명은 81.8세를 추정하고 있다(OECD Statistics, 2015). 이러한 고령화 인구의 증가와 더불어 삶의 질을 향상시키고 건강한 삶을 유지하기 위해서는 고령친화산업 부분에 대한 연구가 절실히 요구되고 있다. 특히 ‘건강한 삶’을 유지하기 위해서는 영양섭취가 매우 중요하며, 이는 가장 기본적인 음식을 씹고 삼키는 기능이 쇠퇴한 노인들에게 있어 매우 중요하다.

영양학적인 측면에서 봤을 때, Lee & Lee (1999) 및 Choi et al. (2010)의 연구에 따르면, 저작불능에 의한 군이 그렇지 않은 군보다 곡류와 채소류의 섭취량이 유의적으로 적었다고 보고하고 있으며, 이는 결과적으로 비타민이나 무기질의 섭취가 부족한 것을 예측할 수 있다. 특히 지용성 영양소인 비타민 A는 고령자에게 저작이 어려운 채소인 당근에 많이 포함되어있다. 일반적으로 당근은 우리나라 음식 문화에서 빠질 수 없는 기본 식재료이며, 당근의 영양학적 의미는 매우 크다. 대표적인 생리활성 물질로는

*Corresponding author: Mi-Jung Choi, Department of Bioresources and Food Science, Konkuk University, 120 Neungdong-ro, Gwangjin-gu, Seoul 143-701, Korea.

Tel: +82-2-450-3048; Fax: +82-2-450-3726

E-mail: choimj@konkuk.ac.kr

Received October 9, 2015; revised October 16, 2015; accepted October 20, 2015

카로틴 색소를 함유하고 있는데, 몸에 흡수되면 비타민 A로 전환되며, 부족할 경우 시력 감퇴뿐만 아니라 야맹증과 같은 각종 안질환에 노출 될 위험이 있다고 알려져 있다 (Shin & Bae, 2001; Yoo et al., 2013). 또한, 항산화 및 항암효과와 성인병 예방 등의 효능을 가지고 있으며, 한방에서는 빈혈이나 저혈압 등에 특히 효능이 있기 때문에 약재로써도 이용된다고 한다.

식재료의 원물 형태는 유지하면서 저작·연하 작용을 돕기 위한 물성변화에 대한 연구는 이슈화되고 있다(Sakamoto et al., 2006). 이러한 고령자 식품의 제조기술에는 경도제어 기술로써 다양한 함침법이 적용되고 있는데, 이는 식품의 형상과 영양성분은 손상하지 않고 저작·연하 곤란자에게 적합한 경도의 식품을 제공하기 위함이다. 본 연구에서는 효소를 활용한 나노 입자 제조 기술을 도입하였으며, 식재료 내에 균일하게 효소를 침투시켜 함침 효율을 증진시키고자 하였다. 즉, 효소를 코팅하는 방법으로 리포솜 제조기술을 이용하였으며, 제조된 리포솜의 입자크기를 나노 입자화하여 식품에 적용하였다. 일반적으로 리포솜은 한 층 또는 여러 층의 지질 이중막으로 구성된 구형의 소포체를 말하며, 이는 수용성 물질과 지용성 물질을 동시에 포집할 수 있는 장점을 지니기 때문에 식품에 다양하게 적용할 수 있다고 알려져 있다(Jin & Yoo, 2001; Oh et al., 2006). 그러므로 수용액 상에 현탁 상태로 존재하는 수용성 기능성 성분을 비롯한 분해효소, 소화효소 등의 성분을 선택적으로 혹은 복합체로 제형화하여 함침속도, 함침효율, 저장기간에 따른 안정성에 따른 효율성을 부가할 것으로 기대할 수 있다.

고령자의 식생활에서 가장 심각한 문제는 저작(음식물을 씹음)과 연하(삼켜 넘김)의 섭식장애라 할 수 있다. 나이가 들수록 일반적으로 먹는 기능이나 소화·흡수하는 기능이 현저히 떨어진다(Clark & Solomon, 2012; Hwang, 2014). 이러한 저작 기능의 저하는 음식물의 크기에 영향을 미쳐 영양 불량이나 편식을 초래할 수 있으며(Kim, 2013), 구강·인두·식도 등의 연하 기능의 저하는 식도로 연하 되어야 할 식품이나 타액이 기관이나 폐로 들어갈 위험성을 증가시킨다고 알려져 있다(Choi, 2014). 즉, 이러한 섭식 기능의 저하는 고령자들에게 있어 식사량을 줄어뜨리게 하며 단백질이나 에너지가 부족한 상태인 저영양 상태에 빠지기 쉽기 때문에 여러 가지 질병에 노출될 가능성이 높다(Rhie et al., 2006). 그러므로 이를 보완하고자 고령자들을 비롯한 특별한 영양관리가 필요한 특정 대상을 위하여 식품과 영양소를 배합하는 등의 방법으로 제조 가공한 특수용도식품(special dietary food)의 개발이 필요한 실정이다(Ogoshi & Watanabe, 2013). 특히, 저작·연하 곤란자들을 위한 식품의 연구개발이 매우 미미하며, 주로 밥과 채소, 육류 등을 믹서에 갈아 죽과 같은 유동식 형태로 병원에서 환자에게 제공되고 있다.

본 연구에서는 비코팅 가수분해효소인 hemicellulase (He)와 나노리포솜(NL)으로 코팅한 hemicellulase를 통해 고령자 및 저작 연하자를 위한 당근의 연화 정도(softening)를 확인하였으며, 이화학적 및 관능학적 분석을 통한 품질변화를 알아보았다.

재료 및 방법

재료

본 연구에서 사용한 당근은 E사 대형 유통마트(Seoul, Korea)에서 구입하였으며, 깨끗이 세척한 후 지름 3 cm, 높이 1 cm의 크기의 실린더 모양으로 일정하게 제형화하였다. Hemicellulase는 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였고, 코팅제인 레시틴은 Lipoids GmbH (Ludwigshafen, Switzerland)에서 구입하여 사용하였다. 그 외 모든 시약은 분석용을 사용하였다.

나노리포솜 제조

2% (w/v) Hemicellulase 용액(피코팅제)에 2% 레시틴 용액(코팅제)을 혼합 후 high speed homogenizer (IKA T25 digital ULTRA-TURRAX®, Staufen, Germany)를 이용하여 12,000 rpm으로 3분 동안 균질 하였다. 1차 균질하여 만든 리포솜을 2차 균질 처리를 위해 3분 동안 초음파 처리 (200 W)하여 1% hemicellulase를 self-assembly된 인지질이 이중막으로 코팅하여 나노 크기의 리포솜을 제조하였다.

시료의 전처리

당근(지름 3 cm, 높이 1 cm)은 증류수(distilled water, DW), hemicellulase (He) 용액, hemicellulase가 코팅된 나노리포솜(He/NL) 용액에 물관 및 체관면을 제외하고 4°C에서 48 시간동안 침지하였다. 각 시료는 12시간마다 채취하여 거즈를 이용하여 효소액과 물기를 제거한 후 이화학적 특성을 분석하였다.

입자 크기 및 제타 전위

He, NL, He/NL 용액의 평균 입자크기 및 입자분포도는 dynamic light scattering (DSL) 원리에 의해 입도분석기(Zetasizer Nano-ZS 90, Malvern Instruments, Worcestershire, UK)로 분석하였다. 25°C에서 용매로 쓰인 증류수 기준 광을 잡고 시료 1 mL을 3회 반복 측정하여 평균값으로 나타내었다. 시료의 입자크기는 z-average diameter (nm)로 표현되며, 입자분포도는 polydispersity index (PDI)로 나타내었다. 제타전위(ζ -potential) 측정은 electrophoresis 원리에 의해 입도분석기로 분석하였다. 제타전위는 콜로이드 시스템의 안정성을 예측하는데 이용하며, 일반적으로 그 값이 +30 mV 이상 또는 -30 mV 이하일 경우 안정하다고 인정된다. 시료는 25°C에서 전기장을 자동 설정한 후 시료 1 mL

을 취한 후 3회 반복 측정 후 평균값으로 나타내었다.

색도

색도는 색도계(CR-400, Konica Minolta, Tokyo, Japan)를 이용하여 DW, He, He/NL 용액에 각각 함침된 당근의 색 변화를 관찰하였다. 실린더 형 당근의 측면을 9회 반복 측정하였다. 측정 전 표준 백색판($L^*=97.83$, $a^*=-0.43$, $b^*=1.98$)으로 보정한 후 사용하였으며 L^* (명도, lightness), a^* (적색도, redness)와 b^* (황색도, yellowness) 값으로 나타내었다. 동시에 색차(ΔE) 비교를 위해 효소 처리한 당근의 색도 변화 값을 생시료에 대비하여 아래의 공식에 대입하여 색차 값을 산출하였다.

$$\text{Total color difference } (\Delta E) = \sqrt{(L_1 - L_2)^2 + (a_1 - a_2)^2 + (b_1 - b_2)^2}$$

L_1 : 생시료의 L 값, L_2 : 처리구의 L 값

a_1 : 생시료의 a 값, a_2 : 처리구의 a 값

b_1 : 생시료의 b 값, b_2 : 처리구의 b 값

경도

각 시료의 경도는 texture analyzer (CT3-1000, Brookfield Engineering Laboratories Inc., Stoughton, MA, USA)를 사용하여 측정하였다. 시간에 따라 hemicellulase가 당근 내부로 확산되어 침투되는 정도에 따른 변화를 관찰하기 위해 시료를 세 부분으로 절단한 다음 중심과 외곽 부위를 나누어 측정하였다. TPA (Texture Profile Analysis) type에서 target value는 5.0 mm이었으며, trigger load는 70 g, test speed는 2.5 mm/s의 속도로 측정하였다. TA3/100 probe와 TA-SBA fixture를 사용하였으며, 각 시료의 측정치는 5회 이상 반복 실험하여 평균값과 표준편차로 표시하였다.

광학 현미경 관찰

당근의 미세조직을 CCD 카메라(3.0M, Olympus, Shinjuku, Japan)가 연결된 광학현미경(Olympus CX31, Olympus, Tokyo, Japan)으로 관찰하였다. 시료를 얇게 편을 떠서(5 mm × 5 mm × 1 mm) 약 10 μ L의 증류수를 slide glass에 떨어뜨린 후 cover glass를 덮어 관찰하였다.

Hemicellulase 활성

각 시료 별로 시간에 따른 hemicellulase의 활성 변화를 측정하고자 Jeong (2000)의 방법을 일부 변형하여 진행하였다. 0.05 M sodium citrate buffer (pH 4.7) 용액에 녹인 1%(w/v) CMC (carboxymethyl cellulose) 0.5 mL과 각 시료 0.5 mL을 넣고 혼합한 후 50°C에서 30분간 반응했다. 반응이 끝나면 3,5-dinitrosalicylic acid reagent 3 mL 첨가 후 혼합한 다음, 5분간 가열하여 반응하였다. 반응한 시료

는 차가운 물에서 냉각시켜 반응을 정지시켰다. 그 후, 2 mL 증류수를 넣고 혼합 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 표준곡선은 표준용 glucose를 사용하였다.

관능검사

본 실험의 관능검사는 가수분해효소인 hemicellulase 및 리포좀으로 코팅된 효소가 시료의 연화 작용 효과가 있는지 알아보기 위해 실행하였다. 관능요원은 건국대학교 대학원생 20명을 패널로 선정하여 본 실험에 관련하여 선호도, 색의 강도 및 연화정도에 대한 관능검사 설문지에 대한 사전 교육을 실시한 후 관능검사를 진행하였다. 시료는 증류수, 비코팅 효소 및 코팅 효소액을 침지한 당근을 0, 12, 24 및 48시간동안 함침한 후 꺼내어 평가가 이루어졌다. 외관의 선호도 및 색의 강도는 선호하거나 색의 강도가 진한 시료를 높은 숫자를 두어 진행하였고(1번 대단히 싫다-9점 대단히 좋다), 경도는 시료의 단단함이 가장 연화된 시료를 높은 점수로 하고 단단한 것을 낮은 숫자로 하여(1점 굉장히 단단하다 - 9점 굉장히 부드럽다) 각 항목에 대해 느낀 점을 1-9점까지 기입한 후 평균값으로 산정한 9점 기호 척도법을 사용하였다.

통계분석

통계분석은 SPSS 통계프로그램(Statistical Package for the Social Science, Ver. 12.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 통하여 평균±표준편차를 산출하였으며, ANOVA 분석을 이용하여 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test를 실시하여 각 시료간의 유의적인 차이를 검증하였다.

결과 및 고찰

리포좀 입자 크기 및 제타 전위 측정

Fig. 1은 hemicellulase (He)와 코팅제인 나노리포좀(NL), 그리고 hemicellulase가 코팅된 나노리포좀(He/NL)의 입자 크기 변화(A)와 제타전위 값(B)을 측정된 결과이다. He의 입자크기는 약 98 nm이며, 나노리포좀의 크기는 약 170 nm로 나타났다. 또한 이들의 제타전위는 모두 음전하를 나타내었으며, 그 값은 각 -12 mV와 -38 mV로 측정되었다. He/NL의 입자크기는 다소 증가하는 경향을 보였으나 200 nm 이하의 작은 입자크기를 나타내었다. 또한 모든 시료의 입자분산지수는 0.4 이하로 단분상의 분산 형태를 가지며, 입자 분포도가 좁은 균일한 크기를 보여주었다(data not shown). 특히, He/NL의 제타전위는 -40 mV 이상의 값을 보여주었으며, 이는 매우 안정한 나노입자를 생성하였음을 확인할 수 있었다. 본 결과를 통해, 리포좀은 He를 포집하는데 매우 유용한 소재임을 알 수 있었으며, 효소 및 제조된 리포좀 시료는 식물소재 식품인 당근에 실제로 적용하여 침지시간에 따른 이화학적 분석을 진행하였다.

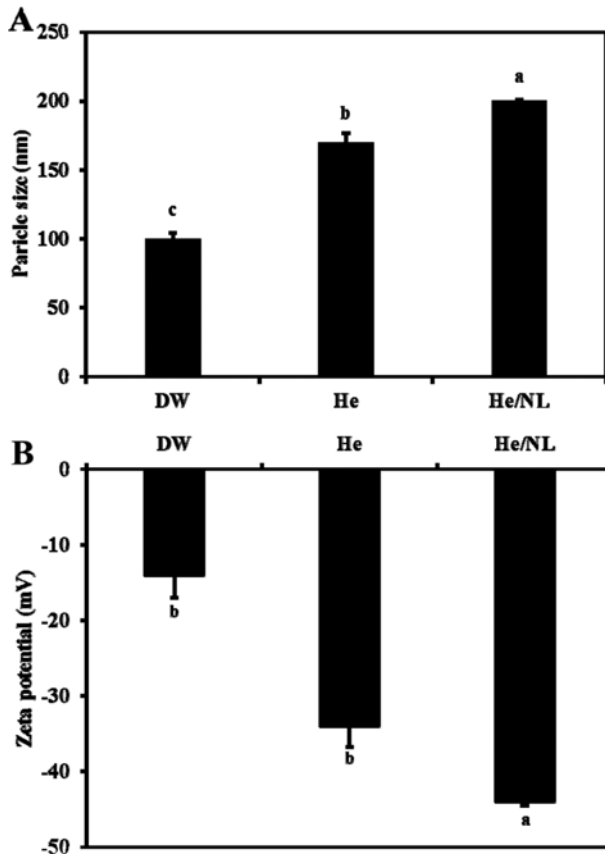


Fig. 1. Particle size and zeta potential of hemicellulase (He), nanoliposome (NL) and nanoliposome coated hemicellulase (He/NL). ^{a-b}Means with the same letter in each sample are not significantly different by Duncan's range test ($p < 0.05$).

색도

Table 1은 서로 다른 침지액에 따른 당근의 색도변화를

침지 시간에 따라 나타내었다. 시료의 명도(lightness)는 모든 처리구에서 침지 시간이 길어질수록 감소하는 경향을 보였다. 시간에 따라 He에 침지한 시료의 적색도(redness)는 유의적으로 감소했지만 증류수와 He/NL에 침지한 시료의 적색도는 12시간 후부터 유의적인 차이를 나타내지 않았다($p < 0.05$). 황색도(yellowness)의 경우, 모든 시료에서 뚜렷한 경향을 나타내지 않았다. 시료의 색차(ΔE)를 살펴보면, He에 침지한 당근의 색차가 가장 크게 나타났으며, 이에 반해 He/NL에 침지한 당근은 색차는 시간이 지남에 따라 감소했지만 통계적으로 유의적인 차이를 나타내지 않았다($p < 0.05$). Lee (2009)의 연구에 따르면 효소를 첨가한 흑마늘과 생마늘의 색도를 측정하여 비교한 결과, 흑마늘이 생마늘에 비해 명도가 월등히 감소하지만 적색도와 황색도는 증가하여 색변화가 일어났음을 보고하였다. Hemicellulase는 당근 속에 있는 다당류의 세포막 성분인 pentosan을 가수 분해시키고 방출시키는데 이는 본 실험에서 당근의 색 변화를 발생시킨 것으로 보여진다(Kim et al., 2008).

경도

증류수, He, He/NL 침지용액으로 침지한 시료의 경도를 시간에 따라 측정하였으며, 측정결과는 Fig. 2에 나타내었으며, 당근의 외곽(A)과 중심부(B)의 경도를 모두 보여주고 있다. 모든 처리구의 경도는 전체적으로 감소하였으며, 당근 중심부와 외곽의 경도를 비교했을 때 외곽보다는 중심부의 경도가 더 낮은 것으로 나타났다. He에 침지한 시료의 외곽 부분의 경도는 시간에 따라 점차적으로 감소하였으며 침지 48시간 후에 급격히 감소하는 경향을 보였으며, 중심부는 보다 더 큰 폭으로 하였다. He/NL에 침지한

Table 1. Changes in color value of immersed carrots in various immersion solutions

Treatments	Color value	Immersion time (h)				
		0	12	24	36	48
DW ¹⁾	L*	63.13 ± 1.12 ^{ad}	61.84 ± 1.49 ^a	57.15 ± 2.44 ^b	55.59 ± 1.02 ^b	55.01 ± 1.08 ^b
	a*	32.35 ± 1.01 ^a	28.74 ± 1.13 ^b	30.26 ± 1.70 ^b	29.18 ± 0.11 ^b	29.14 ± 0.80 ^b
	b*	51.92 ± 2.60 ^a	47.77 ± 1.79 ^b	48.54 ± 1.77 ^b	48.30 ± 0.52 ^b	47.85 ± 1.12 ^b
	ΔE		5.84 ± 1.88 ^a	7.24 ± 3.26 ^a	8.96 ± 1.05 ^a	9.67 ± 1.38 ^a
He ²⁾	L*	63.13 ± 1.12 ^a	53.26 ± 0.57 ^b	52.44 ± 0.57 ^b	51.45 ± 1.44 ^{bc}	50.24 ± 1.19 ^c
	a*	32.35 ± 1.01 ^a	26.42 ± 0.88 ^b	24.66 ± 0.90 ^c	24.33 ± 0.53 ^{cd}	23.08 ± 0.07 ^d
	b*	51.92 ± 2.60 ^b	44.76 ± 1.46 ^a	41.75 ± 1.47 ^a	40.99 ± 0.71 ^a	41.60 ± 1.05 ^{ab}
	ΔE		13.60 ± 1.20 ^b	16.67 ± 1.27 ^a	17.91 ± 1.53 ^a	18.97 ± 0.71 ^a
He/NL ³⁾	L*	63.13 ± 1.12 ^a	59.85 ± 0.56 ^b	59.13 ± 0.82 ^b	58.36 ± 0.83 ^{bc}	56.27 ± 2.34 ^c
	a*	32.35 ± 1.01 ^b	35.96 ± 0.28 ^a	35.42 ± 0.41 ^a	34.74 ± 1.90 ^a	32.71 ± 1.30 ^{ab}
	b*	51.92 ± 2.60 ^c	57.90 ± 1.40 ^a	56.75 ± 1.02 ^{ab}	54.42 ± 0.57 ^{bc}	51.67 ± 1.30 ^c
	ΔE		7.78 ± 0.94 ^a	7.06 ± 0.47 ^a	6.14 ± 0.27 ^a	7.03 ± 2.39 ^a

¹⁾ DW means distilled water.

²⁾ He means hemicellulase.

³⁾ He/NL means nanoliposome coated hemicellulase.

⁴⁾ Values are mean ± SD. n=3.

^{a-d} Means with the same letter in row are not significantly different ($p < 0.05$).

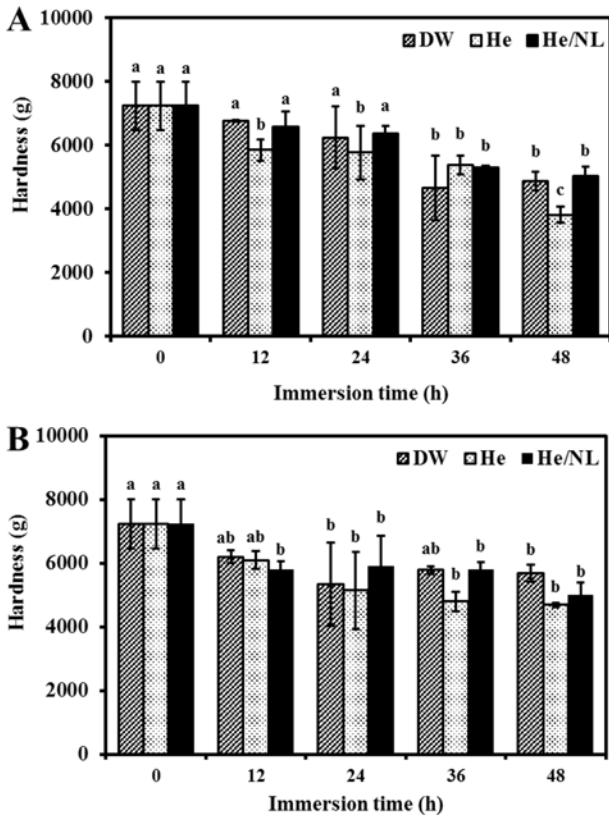


Fig. 2. Changes in hardness of carrots at distilled water (DW), hemicellulase (He) and nanoliposome coated hemicellulase (He/NL) solution. (A) border of carrots, (B) center of carrots. ^{a-c}Means with the same letter in each sample are not significantly different by Duncan's range test ($p < 0.05$).

시료의 중심부의 경도는 증류수에 비해 12시간 후에 급격하게 감소하였고, 그 이후에는 유의적인 차이를 나타내지 않았다($p < 0.05$). 시료의 중심부의 경우 12시간을 제외한 모든 처리 시간대에서 He의 경도보다 He/NL의 경도가 높은 값으로 측정되었는데, 이는 He와 He/NL 간의 침투 속도에 따른 차이가 있음을 나타내는 결과이다. 즉, 코팅막이 존재할 경우 식품의 연화를 방지하여 비코팅된 식품보다 물성을 보존하는데 유리하다고 판단된다. 다시 말해, 코팅막이 효소를 일부 보유하고 있기 때문에 코팅막 밖으로 효소를 유출시키지 않아 다소 연화작용이 지연된 것이라 생각할 수 있다. Kim (2014)의 연구에서는 다양한 효소처리기를 이용한 채소류(무, 도라지등)의 식품연화 특성을 조사하였으며, 본 연구결과와 유사하게 hemicellulase를 포함한 당 분해효소를 이용하여 식품연화에 사용하였을 경우 대조구에 비하여 모든 처리시료에서 유의적으로 식품을 연화하는데 효과적이라 발표하였다. 또한, Lim (2014)의 연구에서 조직대두단백을 단백분해효소로 처리한 결과 대조구의 경도가 가장 높았고, 효소 처리한 시간에 따라 낮은 경도를 보여, 본 실험과 유사한 경향을 보였다. 본 실험에서는 hemicellulase가 당근의 세포벽에 존재하는 펙틴질과 셀룰

로오스를 제외한 다당류인 hemicellulose를 가수 분해하여 세포벽이 일부 파괴된 것에 기인하여 경도가 감소한 것으로 판단된다.

광학 현미경 관찰

Fig. 3는 광학 현미경을 이용하여 당근의 조직을 나타낸 결과이며, 외곽(A)과 중심부(B)의 조직을 서로 다른 침지액에서 침지시간에 따라 나타내었다. 외곽 부위를 먼저 보면, 증류수 처리 시료는 모든 처리구에서 세포벽을 잘 유지하고 관찰된 반면, He 처리 시료는 36시간부터 세포벽이 붕괴되고 파괴되는 것을 확인할 수 있었다. He/NL 시료 역시 부분적으로 파괴된 세포벽이 관찰됐지만, 전반적으로 유지되는 것을 확인할 수 있었다. 중심부를 보면 모든 처리구에서 12시간까지는 뚜렷한 세포벽이 관찰되었고, DW 처리 시료 또한 시간의 경과에 따라서도 세포벽을 유지하였다. 그러나 He와 He/NL 시료들은 외곽과 마찬가지로 36시간 반응 시료들은 세포벽이 붕괴되었고 특히 He 시료는 세포벽 형태를 알아보기 힘들었다. 전반적으로 증류수 처리 시료는 조직을 유지했지만, 코팅/비코팅 효소 함침액에 침지시켰던 당근 시료는 세포벽이 붕괴되어 형태를 유지 못하는 것을 관찰할 수 있었다.

Hemicellulase 활성 측정

Fig. 4는 hemicellulase의 활성도를 반영하는 분해산물인 glucose의 함량으로 나타낸 결과이다. Hemicellulase를 식물성 소재에 넣고 효소의 활성도가 높으면 분해산물인 glucose 생성량이 많아지게 되는데, 이를 이용하여 He과 He/NL의 활성 정도를 비교 분석할 수 있다. 본 실험에서는 시료 전체를 이용하여 He과 He/NL 간의 glucose 생성량을 비교 분석하여 나타내었다. He의 경우 glucose 함량이 시간에 따라 증가하는 경향을 보여주었으나, He/NL의 경우는 시간에 따른 함량 변화가 적었고, He보다 생성된 glucose 함량이 낮았다. 일반적으로 효소의 활성을 고정시키는데 이러한 기술이 많이 이용되고 있으며(Brady & Jordaan, 2009), 이는 본 연구에서도 확연히 나타났다. 즉, 리포좀으로 코팅한 hemicellulase의 경우 활성도가 고정되어 코팅막이 없는 경우보다 활성이 낮아 적은 양의 glucose 생성량을 관찰할 수 있었다.

관능검사

증류수, He 및 He/NL로 침지 처리한 당근의 함침 시간에 따른 관능검사 결과는 Fig. 5에 나타내었다. 외관 선호도는 좋은 것을 높은 점수로 하여 진행하였으며, 24시간동안 침지시킨 효소 침지액 시료에서 7점 이상으로 가장 높은 선호도를 나타냈다. 색의 진한 정도를 나타내는 색의 강도 또한 24시간동안 효소액으로 침지시킨 시료에서 8점으로 높은 선호도를 받았다. 단단한 시료인 당근의 연화정

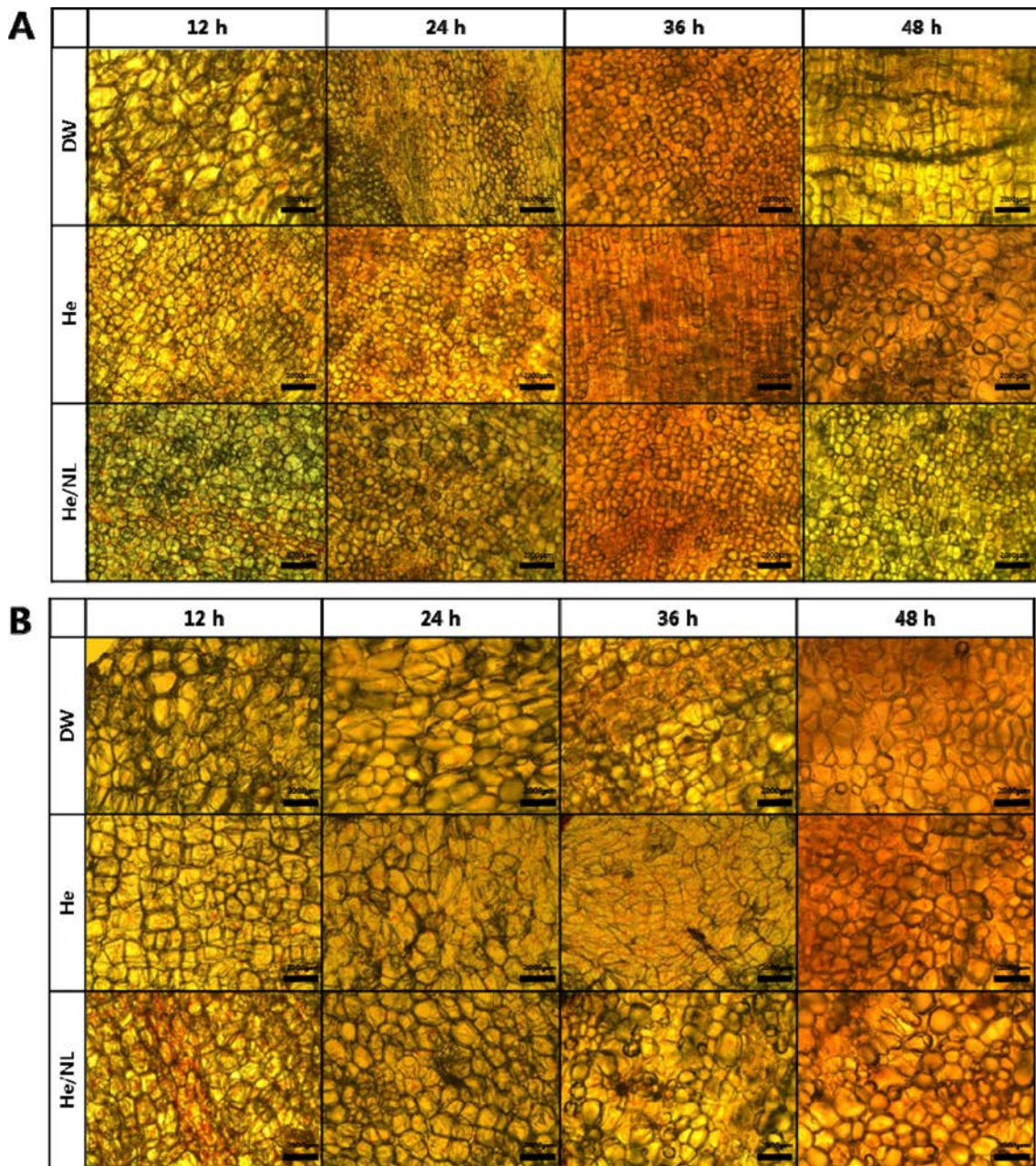


Fig. 3. Changes in structure of carrot over time ($\times 100$). (A) border of carrots, (B) center of carrots. DW: distilled water, He: hemicellulase, He/NL: nanoliposome coated hemicellulase.

도를 알 수 있는 경도 부분에서는 가장 연화가 된 것 같은 시료를 높은 점수로 진행하였는데, 생시료가 가장 낮은 점수를 받아 연화가 안 되고 단단한 것으로 나타났다. 반면에 전반적으로 효소침액 및 리포솜 코팅 효소침액에 침지시킨 당근 대부분이 5-6점으로 유사하게 나타났으며, 이는 효소가 첨가될 경우 코팅막에 관계없이 당근의 연화에 효소첨가가 직접적으로 영향을 미치는 것으로 판단된다. 추가적으로 본 연구에 기초하여 다양한 고령자화 식품개발을 위하여 노인 대상의 관능평가가 필요할 것으로 생각된다.

결 론

식물 소재 식품인 당근을 효소액에 침지 한 시간에 따른 식품의 이화학적 특성 변화를 관찰한 결과, 침지한 효소액에 따라 분명한 차이점을 나타내었다. 색도에서는 명도가 모든 처리구에서 감소하는 경향을 보였고, 특히 He/NL에 침지한 당근의 경우 적색도와 황색도가 감소하는 경향을 보였다. 또한 He와 He/NL 두 처리구에서 공통적으로 당근 본연의 색을 잃어가는 경향을 나타냈다. 경도 측정 결과 시간에 따라 모든 처리구에서 감소하였고 대체적으로 He

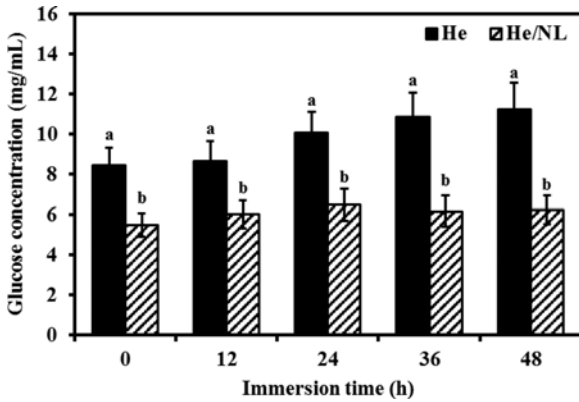


Fig. 4. Changes in hemicellulase activity of immersed carrots during storage time. He: hemicellulase, He/NL: nanoliposome coated hemicellulase. ^{a-b}means with the same letter in each sample are not significantly different by Duncan's range test ($p < 0.05$).

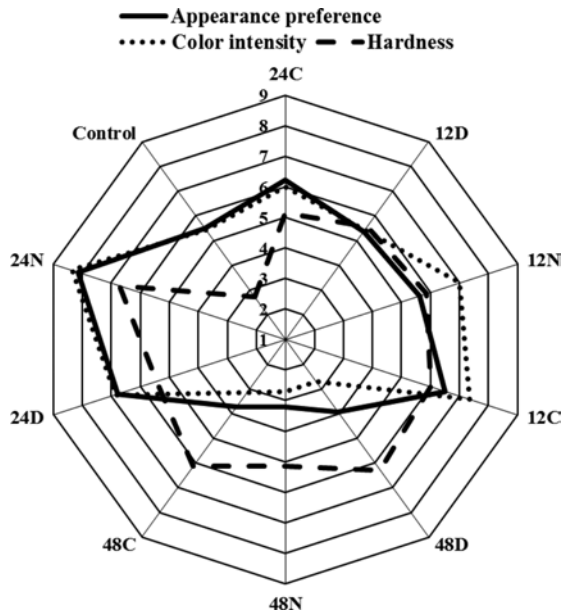


Fig. 5. Effect of non-coated and coated hemicellulase on the sensorial properties of carrot. Appearance preference: (good: 9 point, bad: 1 point), Color intensity: (strong: 9 point, weakness: 1 point), Hardness: (tenderness: 9 point, firmness: 1 point), Control: fresh carrot, 12 D: immersed carrot in distilled water for 12 h, 12 N: immersed carrot in non-coated solution for 12 h, 12 C: immersed carrot in coated solution for 12 h, 24 D: immersed carrot in distilled water for 24 h, 24 N: immersed carrot in non-coated solution for 24 h, 24 C: immersed carrot in coated solution for 24 h, 48 D: immersed carrot in distilled water for 48 h, 48 N: immersed carrot in non-coated solution for 48 h, 48 C: immersed carrot in coated solution for 48 h.

의 경도가 가장 낮았으며, 이는 He/NL 처리된 당근에 비하여 He 처리한 당근의 물성이 더 연화된 것을 나타낸다. 당근을 침지했던 효소액(He, He/NL)의 활성은 생성물인 glucose의 함량 측정을 통해 He/NL의 활성이 He/NL 보다 높게 나타났고 시간에 따라 그 활성이 증가하는 것을 관찰할 수 있었다. 이는 He/NL의 경우 hemicellulas를 둘러싸

고 있는 리포솜 코팅막로 인해 활성화되는 속도가 느리다는 것을 나타낸다. 즉, 리포솜과 같은 코팅막을 이용하여 효소를 고정할 경우 상대적으로 시료 내부로 들어가는 효소의 양이 많아 내부 조직 연화가 먼저 일어나고 특히 시간이 경과함에 따라 효소가 발현되어 연화 기작을 오랫동안 작용할 수 있기 때문에 추후 고령식 식품개발에 응용할 수 있으리라 판단된다. 또한 다양한 영양성분과 기능성 성분을 함께 코팅하여 영양가가 높은 함침액 및 연화된 비과과 노인식 개발에 도움을 줄 것으로 생각된다.

감사의 글

본 연구는 농림수산기술기획평가원의 연구비 지원(과제 번호 313022-3)에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

Brady D, Jordaan J. 2009. Advances in enzyme immobilization. *Biotech. Lett.* 31: 1639-1650.
 Choi HS, Moon HK, Kim H, Choi JS. 2010. Evaluation of the health status and dietary intakes of the elderly in rural areas by dental status. *J. Korean Diet. Assoc.* 16: 22-38.
 Choi KW. 2014. Development blended diet for the elderly with imbalance of nutrition and dysphagia. MS Thesis, Hanyang Univ., Seoul, Korea.
 Clark HM, Solomon NP. 2012. Age and sex differences in orofacial strength. *Dysphagia* 27: 2-9.
 Hwang SA. 2014. Prevalence and influencing factors of dysphagia risk in the community-dwelling elderly. *Korean J. Ger. Soc.* 34: 37-48.
 Jeong WH. 2000. A study on isolation of *Bacillus sp.* 1-5 with high production of xylanase and cellulase and medium condition of its enzyme production. MS Thesis, Konkuk Univ., Seoul, Korea.
 Jin BS, Yoo JY. 2001. A study on the characteristics and stability of liposome. *Dongduk J. Life Sci. Stud.* 6: 74-81.
 Kang DW, Kim YW. 2010. A convergence analysis in social expenditure for old age in twenty countries of OECD from 1980 to 2005: The impact of demographic change on the social expenditure for old age. *Korean Soc. Secur. Stud.* 26: 63-92.
 Kim KH. 2014. Optimization for enzyme treatments on the texture and digestibility of vegetable foods. MS Thesis, Chung-Ang Univ., Seoul, Korea.
 Kim SJ. 2013. Development of easily chewable and swallowable foods for elderly applying gelification. MS Thesis, Sookmyung Univ., Seoul, Korea.
 Kim YS, Kim MY, Chun SS. 2008. Quality characteristics of *Nelumbo nucifera* G. tea white bread with hemicellulase. *Korean J. Soc. Food Sci. Nutr.* 37: 1294-1300.
 Korean Statistical Information Service. Statistical database: Population projections. Available from http://kosis.kr/gen_etl/start.jsp?orgId=101&tblId=DT_1B35001&conn_path=13&path. Accessed July. 20, 2013.
 Lee HK, Lee YK. 1999. The relationship between chewing ability

- and health status in the long-lived elderly of Kyungpook area. *Yeungnam Univ. J. Med.* 16: 200-207.
- Lee JW. 2009. Physicochemical characteristics of aged garlic added with enzyme and quality characteristics of pound cakes and cookies containing various levels of aged garlic. MS Thesis, Chungnam National Univ., Chungnam, Korea.
- Lim JA. 2014. Functional properties and quality characteristics of proteolyzed textured soy proteins for the development of elderly foods. MS Thesis, Chung-Ang Univ., Seoul, Korea.
- OECD Statistics. Health status. Available from http://stats.oecd.org/index.aspx?DataSetCode=HEALTH_STAT. Accessed October. 01, 2015.
- Ogoshi H, Watanabe S. 2013. Utilization of fats and oils for dysphagic patients. *Jpn. Oil Chem. Soc.* 13: 25-31.
- Oh SR, Lee SB, Cho KM, Choi MJ, Jin BS, Han YM, Lee YM, Shim JK. 2006. Preparation and characterization of nano-sized liposome containing proteins derived from *Coptidis rhizome*. *J. Korean Ind. Eng. Chem.* 17: 52-57.
- Rhie SG, Choi MY, Won HR. 2006. The elderly health and dietary management in Gyeonggi province II-comparison with younger old and older old. *Korean J. Community Living Sci.* 17: 141-154.
- Sakamoto K, Shibata K, Ishihara M. 2006. Decreased hardness of dietary fiber-rich foods by the enzyme-infusion method. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 70: 1564-1570.
- Shin MO, Bae SJ. 2001. The effect of *Daucus carota* L. extracts on the fluidity of phospholipid liposomes. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 30: 646-650.
- Yoo JK, Lee JH, Cho HY, Kim JG. 2013. Change of antioxidant activities in carrots (*Daucus carota* var. *sativa*) with enzyme treatment. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 42: 262-267.