

식물세포분리효소를 이용한 채소류의 단세포화

박용곤 · 강윤한*

한국식품개발연구원, *원주대학 식품과학과

Enzymatic Maceration of Vegetables with Cell Separating Enzymes

Yong-Kon Park and Yoon-Han Kang*

Korea Food Research Institute

*Department of Food Science, Wonju National College

Abstract

This study was conducted to investigate enzymatic maceration of radish, cabbage, soybean sprout and carrot with cell separating enzymes in order to obtain individual cells. We studied the macerating properties of Macerozyme R-200, Macerozyme R-10 and Sumyzyme MC on vegetables. Degree of enzymatic maceration was decreasing order of radish, carrot, cabbage and soybean sprout. The degree of enzymatic maceration among macerating enzymes was decreasing order of Macerozyme R-200, Macerozyme R-10 and Sumyzyme MC. The degrees of enzymatic maceration of radish, carrot, soybean sprout and cabbage treated with Macerozyme R-200 for 2hr were 91.0, 80.6, 62.5 and 35.1%, respectively. Total pectin, color and viscosity of carrot macerates increased as the maceration rate increased.

Key words : vegetables, enzymatic maceration, cell separating enzymes

서 론

식물체를 기계적으로 처리하여 착즙하는 방법은 원료에 존재하는 영양소의 낮은 이행율, 저수율, 입자의 불균일, 세포벽이나 세포막이 파괴되므로 불쾌취 발현, 색상의 불안정 및 착즙막의 처리문제 등 문제점이 많다.

일반적으로 식물세포벽은 얇은 1차 세포벽과 비교적 두꺼운 2차 세포벽 및 세포사이를 연결하는 중첩의 세부분으로 나뉘어지며, 1차세포벽은 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스, 펙틴질, 키틴로글루칸 등으로 구성되어 있다(1).

한편 중첩과 1차 세포벽은 주성분으로 protopectin으로 구성되어 있으며, 식물세포간 유착의 기능을 가진다(2). 이러한 protopectin을 가용화할 수 있는 효소로서

식물세포분리효소(protopectinase 또는 cell separating enzyme)라 부르고 있다. 이 효소는 식물조직내의 세포간극물질에 작용하여 세포를 서로 분리하여 가용성펙틴을 유리하며 가용화된 펙틴은 분해하지 않는 특성을 지니고 있다(3). 따라서 식물조직 중 2차 세포벽에는 아무런 영향을 미치지 않고, 단지 세포와 세포를 결합하고 있는 중첩부위의 결합물질 및 1차 세포벽의 일부만을 선택적으로 제거할 수 있어야 한다. 단세포화와 관련된 연구로는 효소의 정제, 특성연구(4)가 있고, 단세포화 식품제조를 위한 응용연구로는 식물조직에 protopectinase를 작용시켜 single cells을 얻었으며(3), 식물조직의 효소적분해(5), *Aspergillus*속 곰팡이의 endopolygalacturonase에 의한 채소류 조직의 단세포화(6)와 single cells이 함유된 주스, 카테일 및 이유식 등의 제조가 가능하다고 하였다(7-9). 또한 protopectin 가용화효소를 생산하는 미생물을 분리, 동정하고 pectin을 제조하는 방법을 확립하였다(10). 효소분해물의 특성조사로는 입도분포(11), maceration정도(12), 입자크기

Corresponding author : Yong-Kon Park, Korea Food Research Institute, San 46-1, Baekhyun-dong, Bundang-ku, Seongnam-city, Kyungki-do, 463-420, Republic of Korea
E-mail : ygpark@kfri.re.kr

분포(13) 등을 조사하였다.

본 연구에서는 무, 양배추, 콩나물 및 당근 등을 식물세포벽분해효소로 단세포화한 후 분해물의 특성을 조사함으로써 생체조직의 미세화기법 개발의 기초자료로 활용하고자 한다.

재료 및 방법

재 료

본 실험에 사용한 무, 양배추, 콩나물 및 당근은 서울 가락동 농산물도매시장에서 구입한 것을 이용하였으며, 세포분리효소인 Macerozyme R-200, Macerozyme R-10은 일본 Yakult사, Sumyzyme MC는 신일본화학공업(주)에서 구입하여 사용하였다.

원료 채소류의 단세포화

식물조직중 세포간극과 1차 세포벽에 존재하는 불용성의 펙틴을 선택적으로 분해하여 세포사이의 물질을 용해, 제거하는 단세포화 실험은 먼저 무, 양배추, 콩나물 및 당근을 세척하여 5mm의 크기로 세절한 시료 50g에 0.1M 구연산-0.2M 인산 완충액(pH 4.5) 85ml, 원료량의 0.5%에 해당하는 식물세포분리효소를 가하여 진탕기(200rpm, 40℃)에서 2시간 반응시켜 얻어진 효소 분해물을 1mm 체(18mesh)를 통과시켜 불용성 잔사(Insoluble residue)를 얻었고 여과액은 5,000rpm에서 15분간 원심분리하여 침전물인 단세포(single cells)와 펙틴질이 함유된 상등액(soluble substances)을 얻었다. 무, 양배추, 콩나물 및 당근을 세포분리효소인 Macerozyme R-200, Macerozyme R-10, Sumyzyme MC를 이용하여 얻어진 반응물은 특성조사에 이용하였다.

단세포 등 각획분의 구성비

단세포의 수를 계산시 일정량의 채소류 중 고형물 함량에 대한 비율과 불용성 잔사, 단세포의 구성비를 계산할 때 건물함량으로부터 산출하였다.

채소류의 반응률

채소류 반응률(Ma,%)은 분해에 사용한 채소류의 중량에 대한 단세포 함유 반응물로 이행된 채소류의 중량 백분비로 다음과 같이 산출하였다.

$$Ma(\%) = \frac{D_1 - D_2}{D_1} \times 100$$

D₁ ; weight of the sample

D₂ ; insoluble residue

단세포 함유 반응물의 용량

Macerozyme R-200, R-10 및 Sumyzyme MC를 이용하여 무, 양배추, 콩나물 및 당근을 효소분해하여 얻은 현탁액을 1mm 체로 여과한 단세포 함유 반응물의 용량(ml)을 측정하였다.

총펙틴 함량

단세포 함유 반응물 중의 펙틴의 정량은 채소류 단세포 함유 반응물 1ml에 0.5ml의 carbazole용액을 가하여 교반한 다음 진한 황산 6ml를 가해 85℃에서 5분간 가열하고 실온에서 15분간 방치시킨 후 525nm에서 흡광도를 측정하여 galacturonic acid로 작성한 표준곡선으로부터 펙틴함량을 산출하였다.

색도 측정

단세포 함유 반응물의 색은 색도계(ColorQUESTII, HunterLab, U.S.A)를 사용하여, L(lightness), a(redness/greenness), b(yellowness/blueness), $\Delta E = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2}$ 를 측정하였다. 이때 사용한 백색판은 L=92.68, a=-0.81, b=0.86의 값을 가진 표준판을 사용하였다.

점도의 측정

반응물의 점도는 회전식 점도계인 Haake Viscometer (Rotovisco RV20, Germany)를 이용하여 전단속도를 0~1200(1/s), 측정온도를 25℃를 유지하면서 측정하였으며, 이때 cup과 rotor는 NV type을 사용하였다. 단세포 함유 반응물의 리올로지 특성은 power law model식(1)과 Herschel-Buckley model식(2)을 이용하여 점조도지수(K, consistency index Pa.secⁿ)와 유동지수(n, flow behavior index)를 해석하였다.

$$\tau = K \cdot \gamma^n \quad (1)$$

$$\tau = C + K \cdot \gamma^n \quad (2)$$

τ : 전단응력(shear stress, Pa)

γ : 전단속도(shear rate, 1/s)

C : 항복력(yield stress, Pa)

결과 및 고찰

단세포 함유 반응물의 각 획분별 구성비

Table 1은 무, 양배추, 콩나물 및 당근을 세포분리효소인 Macerozyme R-200, Macerozyme R-10 및 Sumyzyme MC를 이용하여 분해한 후 얻어진 불용성 잔사, 가용성 물질 및 단세포의 구성비율을 건물 함량비로 나타내었다. 특히 식물조직에서 단세포로 분해하는 효소적 단세포화의 중요성은 구성비율중 단세포물의 비율에 있으며 이를 증대시키기 위해서는 세포를 손상하지 않고 개개의 세포를 단리하여야 한다. 당근의 경우 단세포물 획득의 고품질 구성비가 평균적으로 가장 높았으며 가용성 물질의 비율도 낮은 것을 알 수 있다. 반면 무의 경우 반응률이 높아 Macerozyme R-200, Macerozyme R-10, Sumyzyme MC에서 불용성 잔사의 비율이 각각 3.2%, 6.4%, 8.0% 였고, 단세포물의 비율은 각각 16.3%, 22.5%, 15.4%로 나타났으며 가용성 물질의 비율은 반응중 일부 세포손상으로 인해 유출되어 증가한 것으로 나타났다.

Table 1. Results of maceration test with proportions of the different fractions obtained from vegetables with cell separating enzymes

Vegetables	Enzymes	Insoluble residue(%)	Soluble substances(%)	Single cells(%)
Radish	Macerozyme R-200	3.2	80.5	16.3
	Macerozyme R-10	6.4	71.1	22.5
	Sumyzyme MC	8.0	76.5	15.4
Cabbage	Macerozyme R-200	17.5	64.7	17.8
	Macerozyme R-10	22.8	57.6	19.6
	Sumyzyme MC	25.9	54.6	19.5
Soybean sprout	Macerozyme R-200	28.0	59.6	12.4
	Macerozyme R-10	28.5	58.3	13.3
	Sumyzyme MC	30.8	55.4	13.8
Carrot	Macerozyme R-200	12.1	63.7	24.2
	Macerozyme R-10	33.3	52.9	13.7
	Sumyzyme MC	27.9	49.7	22.3

* values are expressed as a percentage of total dry solids.

반응률, 단세포 함유 반응물의 용량 및 총펙틴 함량

Table 2는 무, 양배추, 콩나물 및 당근을 세포분리효소를 이용하여 얻어진 18mesh로 여과한 후 얻어진 반응물의 특성을 조사한 것이다. 각 효소의 반응률은 반응 후 얻어진 불용성 잔사를 여과지에 5분간 두어 수분을 제거하고 중량을 측정하여 분해전의 채소류에 대한 중량백분비를 산출한 것이다. 전반적으로 Macerozyme R-200으로 분해시 다른 효소보다 반응률이 있어서 우수하였으며 특히 무, 당근의 경우 80% 이상의 반응률을 나타내었다. 반면 콩나물의 경우 35.1%로 분해가 거의 일어나지 않은 것으로 나타났다.

Table 2. Degree of maceration, volume of macerates and total pectin of macerates produced by treatment of various vegetables with different cell separating enzymes

Vegetables	Enzymes	Maceration (%)	Volume of single cells (ml)	Total pectin (mg/ml)
Radish	Macerozyme R-200	91.0	48.5	7.1
	Macerozyme R-10	82.0	44.8	6.5
	Sumyzyme MC	78.0	44.8	5.6
Cabbage	Macerozyme R-200	62.5	40.8	7.9
	Macerozyme R-10	48.0	38.3	7.8
	Sumyzyme MC	48.5	37.8	7.5
Soybean sprout	Macerozyme R-200	35.1	34.5	2.2
	Macerozyme R-10	26.3	34.3	1.9
	Sumyzyme MC	27.2	34.3	1.8
Carrot	Macerozyme R-200	80.6	39.5	6.5
	Macerozyme R-10	37.1	36.5	7.2
	Sumyzyme MC	41.9	37.0	5.5

반응물의 용량은 Macerozyme R-200의 단세포화 활성이 가장 높아서 Macerozyme R-200으로 처리한 이들 식물체의 분해는 무 > 양배추 > 당근 > 콩나물 순이었으며 콩나물의 분해는 거의 일어나지 않은 것으로 나타났다.

총펙틴은 채소류 50g을 효소처리하여 얻어진 단세포 함유 반응물 1ml중에 함유되어 있는 함량으로 효소 종류별로 볼 때 활성도가 큰 Macerozyme R-200으로 채소류를 분해한 경우 반응물의 함량이 증가됨과 아울러 펙틴의 함량이 증가함을 알 수 있었다. 반응률이 가장 낮은 콩나물의 경우 총펙틴의 함량에 있어 Sumyzyme MC에서 2.2, 1.8mg/ml를 각각 나타내었다.

Table 3. Color of macerates produced by treatment of various vegetables with different cell separating enzymes

Vegetables	Enzymes	Color			
		L	a	b	ΔE
Radish	Macerozyme R-200	32.36	0.29	4.79	60.45
	Macerozyme R-10	35.27	-0.48	2.91	57.44
	Sumyzyme MC	35.56	-0.46	4.06	57.20
Cabbage	Macerozyme R-200	30.93	0.08	4.71	61.87
	Macerozyme R-10	34.35	-0.73	3.44	58.38
	Sumyzyme MC	34.11	-0.54	3.79	58.64
Soybean sprout	Macerozyme R-200	43.15	0.97	12.65	50.95
	Macerozyme R-10	47.66	-0.63	8.42	45.65
	Sumyzyme MC	48.38	-0.67	7.88	44.84
Carrot	Macerozyme R-200	31.95	13.70	11.06	63.27
	Macerozyme R-10	32.53	13.73	11.20	62.73
	Sumyzyme MC	32.23	13.13	10.95	62.84

색 도

Table 3은 무, 양배추, 콩나물 및 당근을 효소분해하여 얻은 반응물의 색도를 나타낸 것으로 R-200처리구는 효소 자체의 색으로 인하여 황색이 심하였으며 채소류 반응물 중에는 콩나물의 b값이 가장 높은 12.65를 나타내었다. Macerozyme R-200은 Macerozyme R-10과 Sumyzyme MC에 비해 0.5%농도에서 황색을 나타내므로 L값은 낮아지고, b값은 증가되는 것으로 나타났다.

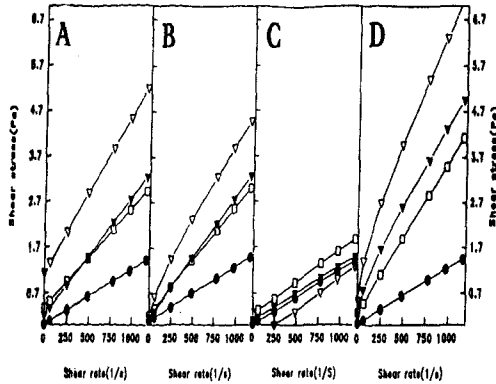


Fig. 1. Shear stress vs shear rate plot of single cell suspension from radish(A), cabbage(B), soybean sprout(C) and carrot(D).
● : Control, ▽ : Macerozyme R-200,
▼ : Macerozyme R-10, □ : Sumyzyme MC.

Table 4. Correlation coefficients of power law model and Herschel-Buckley model on suspensions of single cell from radish, cabbage, soybean sprout and carrot

Vegetables Enzymes	Power law model			Herschel-Buckley model				
	n(-)	k(Pasc ⁿ)	r ²	n(-)	k(Pasc ⁿ)	C	r ²	
Radish	Control	0.8692	0.0029	0.97	0.8765	0.0027	0.0019	0.97
	Macerozyme R-200	0.1670	0.4721	0.96	0.6178	0.0543	0.5531	0.96
	Macerozyme R-10	0.6895	0.02183	0.98	0.7466	0.0146	0.0561	0.99
	Sumyzyme MC	0.5228	0.0615	0.94	0.6296	0.0278	0.1666	0.96
Cabbage	Control	0.7342	0.0075	0.97	0.7738	0.0057	0.0167	0.97
	Macerozyme R-200	0.6436	0.0443	0.99	0.7939	0.0158	0.1709	0.99
	Macerozyme R-10	0.7863	0.0116	0.99	0.8187	0.0093	0.0561	0.99
	Sumyzyme MC	0.7034	0.0191	0.99	0.7720	0.0119	0.0548	0.99
Soybean sprout	Control	0.7890	0.0047	0.97	0.8009	0.0043	0.0041	0.97
	Macerozyme R-200	1.5686	0.0002	0.98	0.8919	0.0023	-0.0795	0.91
	Macerozyme R-10	0.6338	0.0147	0.95	0.6961	0.0095	0.0348	0.96
	Sumyzyme MC	0.5004	0.0439	0.91	0.6036	0.0204	0.1108	0.93
Carrot	Control	0.0049	0.7908	0.98	0.8128	0.0042	0.0072	0.98
	Macerozyme R-200	0.5423	0.1441	0.99	0.8053	0.0225	0.5553	0.96
	Macerozyme R-10	0.7863	0.0607	0.99	0.7836	0.0188	0.2347	0.98
	Sumyzyme MC	0.7034	0.0112	0.99	0.9788	0.0044	0.0446	0.93

* : Correlation coefficient.

점 도

Fig. 1은 채소류를 세포분리효소로 분해한 후 점도를 측정하여 전단속도를 1부터 1200(1/s)까지 증가시켰을 때 전단응력은 Macerozyme R-200 > Macerozyme R-10 > Sumyzyme MC 순으로 비례적으로 감소하였다. 효소종류별 단세포 함유 반응물의 유동특성을 power law model과 Herschel Bulkley model에 적용시켜본 결과는 Table 4와 같다. 이들 두 모델식에 의해 구한 유동지수(n)값을 보면 효소에 관계없이 단세포 함유 반응물은 의가소성을 나타내는 것을 알 수 있다. Herschel-Bulkley식에 의해 구한 항복력은 Macerozyme R-200 효소로 처리한 당근 단세포 함유 반응물의 경우 0.5553으로 높은 것으로 나타났다.

요 약

무, 양배추, 콩나물 및 당근의 식물조직 세포를 세포분리효소인 Macerozyme R-200, Macerozyme R-10 및 Sumyzyme MC를 이용하여 단세포 함유 반응물 얻은 후 반응물, 용량, 총펙틴, 색도 및 점도 등 특성을 조사하였다. 4종의 채소류를 세척하여 5mm의 크기로 세절한 시료 일정량에 0.1M 구연산-0.2M 인산 완충액(pH 4.5)을 채소류 중량의 1.7배, 효소류를 시료중량의 0.5% 첨가하여 진탕속도를 200stroke로 40℃에서 2시간 반응시켜 얻어진 단세포 함유 반응물의 용량을 측정하고, 남은 잔사의 중량을 측정하여 반응물을 구한 결과 무 > 당근 > 양배추 > 콩나물의 순으로 분해되는 것으로 나타났다. 반응물이 높을 수록 단세포 함유 반응물의 용량은 증가하는 것으로 나타났다. 단세포화 효소중에서는 Macerozyme R-200 > Macerozyme R-10 > Sumyzyme MC의 순으로 반응물이 높았으며 Macerozyme R-200을 이용한 2시간 반응 후의 반응물은 무, 당근, 콩나물, 양배추에서 91.0, 80.6, 62.5, 35.1%로 각각 나타났다. 당근의 경우에 반응물이 증가할수록 단세포 함유 반응물의 총펙틴, 색도 및 점도는 증가하는 경향이었다.

참고문헌

- Gunning, B. E. S. and Steer, M. W. (1996) Plant cell biology, Jones and Bartlett Publishers, p.1-4
- Guillon, F., Thibault, J., Rombouts, F. M., Voragen, A. G. J. and Pilnik, W. (1989) Enzymic hydrolysis of the hairy fragments of sugar beet pectins.

- Carbohydrate Res.*, **190**, 97-108
3. Nakamura, T., Hours, R. A. and Sakai, T. (1995) Enzymatic maceration of vegetables with protopectinase. *J. Food Sci.*, **60**(3), 468-472
 4. Sakamoto, T., Hours, R. A. and Sakai, T. (1994) Purification, characterization, and production of two pectic transesterases with protopectinase activity from *Bacillus subtilis*. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **58**(2), 353-358
 5. 石井茂孝, 川村 敏, 横塚 保 (1970) 植物組織の酵素的分解に関する研究(4報). 日本農藝化學會誌, **44**, 306-311
 6. Zetelaki-Horvath, K. and Gatai, K. (1977) Disintegration of vegetable tissues by endo-polygalacturonase. *Acta Alimentaria*, **6**(3), 227-240
 7. Zetelaki-Horvath, K. and Gatai, K. (1977) Application of endo-polygalacturonase to vegetables and fruits. *Acta Alimentaria*, **6**(4), 355-376
 8. 高橋 慧 (1990) 單細胞化食物含有食品の製造方法. 食品と科學, **5**, 96-107
 9. Sakai, T., Sakamoto, T., Hallaert, J. and Vandamme, E. J. (1993) Pectin, pectinase, and protopectinase : production, properties, and applications. *Advances in applied microbiology*, **39**, 213-294
 10. Sakai, T. and Okushima, M. (1980) Microbial production of pectin from citrus peel. *Appl. Environ. Microbiol.*, **39**, 908-912
 11. Zetelaki-Horvath, K. and Urbanyi, Gy. (1978) Determination of particle size of vegetable tissue by a sedimentation technique after enzymatic disintegration. *Acta Alimentaria*, **7**(1), 69-78
 12. Tantchev, S. S., Malkki, Y., Pessa, E., Kinnunen, A. and Morkkila, M. (1990) An absorption weighting method for determining the degree of enzymatic maceration in fruit and vegetables. *Acta Alimentaria*, **19**(3), 261-271
 13. Zetelaki-Horvath, K. (1980) Disintegration of vegetable tissues as a function of polygalacturonase concentration and incubation period. *Acta Alimentaria*, **9**(4), 367-382

(접수 2000년 3월 18일)