

배 가공부산물의 부가가치 제고를 위한 효소학적 연구

이승철* · 육현균**

(*경남대학교 생명과학부 교수 · **경남대학교 생명과학부 대학원생)

Enzymatic Study for the Value Increase of the Pear pomace

Seung-Cheol Lee* · Hyun-Gyun Yuk**

***Dept. of Food Science and Biotechnology, Division of Life Sciences,
Kyungnam University, Masan 631-701, Korea

적 요

배박으로부터 기능성 식품소재인 펙틴을 추출하기 위하여 먼저, 물과 알콜 가용성 펙틴을 제거한 water-alcohol insoluble pectin (WAIP)을 제조하였다. WAIP에 존재하는 총 galacturonic acid의 함량은 34.6%로 측정되었으며, WAIP로부터 산처리를 통한 펙틴 추출수율은 약 6.2%로 나타났다. Exo-polygalacturonase(EPG)는 불용성의 프로토펙틴을 수용화시켜 펙틴을 생산하는 효소로 최적조건시 높은 수율을 나타낼 수 있기 때문에 EPG를 이용하여 펙틴추출 조건을 온도, 시간, pH, 효소 첨가량 등을 조사하였다. 먼저 최적조건을 조사한 결과 60°C, 36시간, pH 7.8, 10:1(w/w)의 기질과 효소 반응비에서 23.4%로 가장 높은 추출 수율을 나타내었다. 펙틴의 순도를 측정된 결과 산 추출 펙틴은 71.7%이었고, 효소를 이용하여 추출한 펙틴은 34.7%로 나타났다. 또한 methoxyl 함량을 측정된 결과 산 추출 펙틴은 5.0%, 효소 추출 펙틴은 0.7%로 저 methoxyl 펙틴으로 나타났다. 한편, 추출된 펙틴의 평균 분자량은 효소 추출 펙틴의 경우 2.5×10^3 이었고, 산 추출 펙틴의 경우 8.4×10^3 으로 나타났다.

1. 서론

배는 우리나라에서 기호도가 높은 과실 중의 하나이며, 1996년부터 배의 가공품인 음료수로 상업화되어 그 시장성을 확대해 나가고 있다. 1997년에는 26만여톤의 배가 국내에서 생산되어 그중 약 3만톤이 가공품용으로 이용되고 있으며¹⁵⁾ 착즙은 약 60%정도가 이루어지고 있다. 배 가공 후의 부산물(이하 배박)은 약 30% 정도가 발생하여 전량 비료로 이용되고 있으나, 박의 주성분인 펙틴질을 효율적으로 추출할 수 있다면 배박의 부가가치를 한층 더 높일 수 있

을 것이다.

배박의 펙틴은 세포벽의 cellulose나 hemicellulose에 에스테르결합화되어 프로토펙틴의 형태로 존재하고 있으며, 배의 숙성에 따라 일부가 가용성 펙틴으로 전환된다. 펙틴은 galacturonic acid 또는 C-6부분이 methylester화된 galacturonic acid를 주 구성당으로 하는 다당류로서, 식물조직의 세포벽이나 중엽에서 발견된다^{18,22)}. 펙틴은 식물세포의 기계적 강도를 유지하거나 세포간의 결합, 조직의 강도, 응집성 및 점조성 등에 영향을 미친다¹¹⁾. 펙틴은 특유의 성질로 말미암아 식품에서 겔화제, 안정제, 점증제 등으로 이용되며, 또한 의약, 화장품 등에 널리 이용되어져 왔다¹⁴⁾. 최

근에는 정상 작용, 콜레스테롤 저하 효과, 지방대체제로서의 기능성 등이 보고되어 그 사용량이 계속 증가하고 있다¹⁾.

펙틴은 산이나 알칼리 처리를 통하여 식품으로부터 단계적으로 얻을 수 있으며, 산업적으로는 감귤류의 껍질이나 사과박에 고온의 산 용액을 처리하는 화학적 방법을 사용하고 있다¹⁷⁾. 그러나 산처리 방법은 불순물을 함유하여 펙틴의 순도를 낮추어 기능성을 저하시키고 기기를 부식시키며 수질오염을 야기하는 등의 단점을 가지고 있다²³⁾. 이러한 단점들을 보완하기 위한 방안으로 hemicellulase⁷⁾, protopectinase⁵⁾ 등의 효소를 이용하여 펙틴을 추출하는 연구가 보고되고 있다.

Exo-polygalacturonase(EPG)는 protopectinase의 일종으로서 불용성 프로토펙틴 중 α -1, 4결합으로 존재하는 galacturonic acid사슬에 작용하여 수용성 펙틴을 방출하며, 식물의 부패에 관여하는 미생물과 토양 미생물에 많이 존재한다²³⁾. EPG는 cellulose와 결합된 펙틴의 중성당 결사슬을 분해하거나, homogalacturonan부분을 분해한다¹⁹⁻²¹⁾. EPG는 식물성 식품소재에 대한 단세포화²⁴⁾, 식물세포의 protoplast 생산¹⁶⁾, 펙틴 생산⁶⁾ 등에 응용성을 가진다고 보고되었으며, 그 중요성은 점차 증가하고 있다. 따라서, 본 연구에서는 EPG²⁵⁾라는 효소를 이용하여 효소가 가지고 있는 식물세포벽의 선택적 수용화에 의한 펙틴 생산기술을 개발하기 위하여 배박의 펙틴 추출 효과를 분석, 그 특성을 조사하여 배박의 효율적인 이용방안에 대해 연구하였다.

II. 재료 및 방법

1. 재료 및 시약

본 연구에서 사용한 건조 배박은 나주배연구소(전남 나주)에서 제공받은 것으로 Analytical miller(IKA-Labortechnik, Germany)로 분쇄하여 80 mesh체를 통과시켜 4°C에서 저장하면서 실험에 사용하였다. 실험에 이용한 exo-polygalacturonase(21,000 Units/g)는 Yakult Honsha(Tokyo, Japan)에서 구입했고, alcohol oxidase(EC 1.1.3.13)는 Sigma Chemical Co. (St Louis, MO, U.S.A)에서 구입하여 사용하였다. 그외 기타 시

약들은 특급품 이상을 사용하였다.

2. 배박의 일반성분 분석

배박의 일반성분 분석은 AOAC법⁸⁾에 준하여 수분, 조단백질, 조지방, 회분, 탄수화물의 함유량을 측정했다.

3. 수용성 및 알콜용해성 펙틴 추출

수용성 펙틴을 추출하기 위해 먼저 50g의 배박에 100mL의 증류수를 첨가한 후 homogenizer를 이용하여 분쇄시키고 한 시간동안 실온에서 저어주었다. 10,500×g에서 10분간 원심분리시킨 후 여과하여 그 여액을 취하여 전체 부피가 250mL가 되도록 증류수를 첨가하였다. 그런 후 isopropanol을 375mL를 첨가해서 펙틴만을 선택적으로 침전시키고 다시 19,000×g에서 10분간 원심분리시켜 펙틴을 침전시킨 후 최종적으로 동결건조하여 중량을 측정하였다. 알콜용해성 펙틴은 수용성 펙틴추출시 남은 잔사를 ethanol과 acetone으로 수세한 후 원심분리하여 그 상등액을 회전 농축기에서 농축시켰다. 그런 후 농축액을 동결건조하여 중량을 측정하였다.

4. Water-Alcohol Insoluble Pectin(WAIP)의 제조^{6,7)}

배박으로부터 효소 또는 산의 작용만으로 추출할 수 있는 펙틴의 양을 조사하기 위하여 물과 알콜 가용성 펙틴을 제거한 water-alcohol insoluble pectin(WAIP)을 제조하여 펙틴 추출 원료로 이용하였다. 먼저 배박(10g)을 증류수(20mL)에 혼합한 후 마쇄기(AM-T, Nihonseiki Kaisha LTD, Japan)를 이용하여 30초간, 2회에 걸쳐서 배박을 잘게 마쇄하였다. 여과지(Whatman No.2)로 배박의 마쇄물을 걸러낸 후, 그 여과물에 ethanol(20mL)을 가하여 20분간 가열하였다. 이것을 다시 여과한 후 그 여과물에 ethanol(20mL)을 가하여 한번 더 여과하고, 최종적으로 그 여과물에 acetone(20mL)을 가하여 여과한 후 동결건조시켜서

WAIP를 얻었다. WAIP추출시 각 단계별 추출된 펙틴량을 측정하기 위하여 carbazol 비색법²²⁾을 이용하여 총 galacturonic acid를 측정하여 배박 원료량에 대한 백분율로 표시했다.

5. Enzyme Soluble Pectin(ESP)의 제조^{6,7)}

20mM의 각 buffer 100mL (pH 3.0, citrate buffer: pH 4.0, acetate buffer: pH 5.0, acetate buffer: pH 6.0, sodium phosphate buffer: pH 7.0, sodium phosphate buffer: pH 7.8, sodium phosphate buffer: pH 8.2, Tris buffer: pH 9.0, glycine buffer)에 WAIP 1g과 효소를 첨가한 후 배양기(HB-201 SF)에서 온도와 시간을 달리하여 100rpm으로 진탕하며 반응시켰다. 반응이 끝난 후 10,500×g에서 10분간 원심분리하였다. 상정액을 여과지로 여과한 후 100°C에서 10분간 가열한 후, acetone량이 70%가 될 때까지 잘 저으면서 첨가하였다. 그후 19,000×g에서 10분간 원심분리시켜 침전물(enzyme soluble pectin)을 acetone으로 씻은 후 동결건조기에서 건조시켰다. 펙틴 추출 수율은 기질 첨가량에 대한 추출된 펙틴량을 백분율로 표시했으며 각각 조건에서 효소만 첨가한 공시험을 실시하여 acetone첨가시 발생할 수 있는 효소 침전량을 추출된 펙틴량에서 감하여 추출율을 계산하였다.

6. Acid Soluble Pectin(ASP)의 제조^{6,7)}

WAIP 2g에 0.05M의 HCl 100mL를 첨가한 후 60°C에서 30분간 가열하였다. 냉동 원심분리기(Hitachi, 20PR-502, Japan)에서 10,500×g, 20분간 원심분리한 후 여과지로 여과하고 여과액에 1M NaOH를 첨가하여 용액의 pH를 4.5로 조절하였다. 이 용액에 acetone량이 70%가 되도록 첨가하여 19,000×g에서 10분간 원심분리하였다. 최종적으로 침전물을 acetone으로 씻은 후 동결건조시켰다.

7. 추출펙틴의 특성

펙틴의 순도는 추출 펙틴의 galacturonic acid를 m-

hydroxydiphenyl법⁹⁾으로 측정하여 측정된 galacturonic acid 양을 시료 양에 대한 백분율로 나타내었다. 0.01%(w/v)의 펙틴 용액 0.5mL를 냉수에서 5분 동안 식힌 뒤 황산을 용매로 하여 만든 12.5mM의 sodium tetraborate 3mL를 첨가하여 혼합시켰다. 그 후 100°C에서 5분간 끓이고 나서 다시 냉수에서 5분간 식히고, 0.5%(w/v) sodium hydroxide에 녹인 0.15% (w/v) m-hydroxydiphenyl을 0.05mL 첨가하여 잘 혼합한 뒤 20분 후에 520nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질은 0.001~0.010% galacturonic acid를 사용하였다.

펙틴의 methoxyl 함량은 0.001~0.010% methanol을 표준물질로 사용하여 추출된 galacturonic acid 내의 carboxyl기의 에스테르화 정도를 Klavons & Bennett 법¹²⁾으로 측정하였다. 추출 펙틴 3mg을 증류수 5mL에 녹인 뒤 1.0N potassium hydroxide 용액을 5mL 첨가하고 실온에서 30분간 정치시킨 후, 5%(v/v) o-phosphoric acid를 이용하여 용액의 pH를 7.5로 맞춘 뒤 전체 용액이 20mL가 되게끔 50mM potassium phosphate buffer(pH 7.5)를 첨가하여 stock solution을 제조하였다. Stock solution 중 1mL를 취하여 1unit/mL의 alcohol oxidase를 50mM potassium phosphate buffer(pH 7.5)에 용해시킨 용액 1mL를 첨가한 후 25°C, 15분간 반응시키고, 2.0M ammonium acetate와 0.05M acetic acid에 용해된 0.02M pentan-2,4-dione용액 2mL를 첨가하고 잘 혼합한 뒤 60°C에서 15분간 열처리를 하고 실온에서 식힌 뒤 412nm에서 흡광도를 측정했다.

펙틴의 분자량은 Cannon-Fenske capillary viscometer를 이용하여 측정하였다. 일정량의 펙틴을 증류수에 넣고 상온에서 1시간 교반한 후, 이를 0.45µm membrane filter에서 여과하여 10mL의 용액을 Cannon-Fenske 모세점도관(size 50)에 넣고 25±0.1°C에서 점도를 측정하였다.

비점도(specific viscosity: η_{sp})와 고유점도(intrinsic viscosity: $[\eta]$)는 각각 다음 식을 이용하여 결정하였다.

$$\eta_{sp} = (\eta - \eta_s) / \eta_s$$

$$[\eta] = \lim_{C \rightarrow 0} \eta_{sp} / C$$

여기서 η 는 용액의 점도, η_s 는 용매의 점도, C는 용액의 농도이다. 펙틴의 분자량은 위에서 구한 고유점도를 다음의 Mark-Houwink¹³⁾ 식에 대입하여 계산하였다.

$$[\eta] = 2.16 \times 10^{-4} M^{0.79}$$

즉, $M = (4.630 \times [\eta])^{1.2658}$

III. 결과 및 고찰

1. Water-Alcohol Insoluble Pectin(WAIP)의 제조 단계별 특성

본 연구에 이용된 건조 배박의 화학적 성분은 수분 7.0%, 조단백질 3.2%, 조지방 7.0%, 회분 2.2%, 총당 58.3%이었다. Table 1에 단계별 추출률을 표시한 바와 같이 배박에 존재하는 총 galacturonic acid의 양은 전체 배박 중 54%를 차지하며 본 연구를 위하여 추출된 WAIP에는 34.6%를 함유하는 것으로 나타나 많은 양의 펙틴이 배박에 존재하는 것으로 생각된다. 한편, 수용성 및 알콜 용해성 펙틴은 전체 배박의 18.6%로 상대적으로 적은 양이 추출되었다. 건조 사과박 및 감귤류 껍질의 30%미만의 펙틴⁷⁾과 비교해 볼 때 펙틴 추출에 대한 원료로서 배박의 사용 가능성이 더 높을 것으로 기대된다.

2. 수용성 및 알콜용해성 펙틴

배박으로부터 수용성 펙틴을 추출한 결과 3.6%의 수용성 펙틴이 추출되어 WAIP제조 과정 중 수용성 펙틴의 galacturonic acid함유량과 많은 차이를 나타내었으며, 에탄올로 추출한 결과, 10.17%의 에탄올 용해성 펙틴이 추출되었고 아세톤의 경우, 0.96%의 아세톤 용해성 펙틴이 추출되어 WAIP의 제조 과정상의 에탄올과 아세톤 추출물의 galacturonic acid 함유량과 유사한 경향을 나타내었다.

3. 반응조건별 ESP(enzyme soluble pectin)의 추출율

EPG는 식물 조직의 세포벽에 존재하는 프로토펙틴을 분해하여 식물세포를 단세포화하는 기능²¹⁾이 밝혀져 식물 기원의 식품 원료의 가공에 이용될 수 있으며, 사과박으로부터 펙틴을 추출한 결과⁶⁾ 탁월한 효과가 있음이 확인되었다.

배박으로부터 EPG에 의한 펙틴 추출의 최적 조건을 구하기 위하여 효소 반응 조건은 pH 7.8, 48시간으로 고정하고, 사과박 펙틴 추출에 최적조건⁶⁾인 반응용액 100mL에 기질인 WAIP 1g과 효소인 EPG 0.05g을 가하고 반응 온도만을 변화시켜 수용성 펙틴의 추출율을 측정하였다(Fig. 1). 본 연구에서 조사한 30°C에서 68°C까지의 온도 범위에서 온도의 영향은 비교적 적었으며, 60°C에서 22.5%로 추출율이 가장

Table 1. Galacturonic acid content on each steps for water-alcohol insoluble pectin (WAIP) preparation process

Step	Content of total galacturonic acid (%)
Pear pomace ¹⁾	54.0
D.W. washing ²⁾	5.9
EtOH boiling ²⁾	6.3
EtOH washing ²⁾	5.9
Acetone washing ²⁾	0.5
WAIP ¹⁾	34.6

¹⁾Solid was used as sample.

²⁾Filtered liquids after each filtration were used as samples.

높았다. 반응 온도에는 효소의 안정성과 기질의 안정성, 그리고 효소의 반응속도가 인자로 작용하며, 이들의 복합적 연관작용 결과 60°C에서 최적 조건이 형성됨을 알 수 있었다¹⁰⁾.

효소 반응 시간의 영향을 조사하기 위하여 반응 온도를 60°C로 고정하고 그 외의 조건은 Fig. 1과 같이 하면서 반응 시간을 변화시켜 EPG의 펙틴 추출에 대한 영향을 조사하였다(Fig. 2). 반응시간이 증가하면서 추출되는 펙틴의 양도 소량 증가하여 36시간의 반응에서 23.6%로 가장 추출율이 높았으며, 그 이상의 시간에서는 비례적으로 감소하였다. 이는 추출된 펙틴이 EPG에 의하여 부분적으로 분해되는 것으로 추측된다.

반응 pH에 따른 EPG의 영향을 조사하기 위하여 반응 온도는 60°C, 반응 시간은 36시간으로 고정하고 그 외의 조건은 Fig. 1과 같이 하면서, pH를 변화시키면서 펙틴 추출율을 측정하였다(Fig. 3). 이 결과, 산성에서 중성으로 갈수록 추출되는 펙틴의 양이 증가하여 pH 7.8에서 WAIP의 23.4%가 수용성 펙틴으로 추출되었으며, 염기성 pH로 갈수록 추출율은 감소하였다. Yakult사에서 실시한 감자 단세포화에 대한 EPG의 반응 최적 pH는 pH 5.0-6.0, 최적온도는 40°C-50°C로 보고되어 있으나²⁵⁾, 배박에서의 불용성

펙틴에 대한 반응은 60°C와 pH 7.8에서 최적을 나타내어 기질에 대한 효소의 반응 기작이 다소 차이가 있음을 보였다. 위의 세가지 인자 중 시간과 온도의 영향은 배박 펙틴 추출에 있어서 비교적 적었으며 산업적인 가능성을 고려한다면 더 짧은 반응 시간과 더 낮은 반응 온도도 펙틴 추출에 이용할 수 있을 것으로 생각된다. 또한 사과박으로부터의 펙틴 추출 조건인 pH 7, 60시간, 45°C에 비해⁶⁾ 배박의 경우 최적 pH 조건은 유사했으나 최적 온도는 사과박에 비해 높아졌고 최적 시간은 단축되는 결과를 나타내어 반응 기질에 있어서 세포벽 구조의 차이가 있음을 보였다.

WAIP에 대한 EPG의 적정 첨가량을 조사하기 위하여 반응 온도 60°C, 반응 시간 36시간, 반응 pH 7.8에서 효소량을 변화시키면서 추출된 펙틴의 양을 조사한 결과, WAIP 1g에 대하여 0.1g의 EPG가 작용할 때, 즉 기질과 효소의 비가 10:1(w/w)일 때 가장 많은 수용성 펙틴을 회수할 수 있었다(Fig. 4). 그러나 기질에 대한 효소의 농도는 펙틴 추출에 크게 영향을 끼치지 않는 것으로 나타나 산업적 응용시 더 낮은 농도의 효소를 이용하여도 20%이상의 수율을 유지할 것으로 생각된다. 한편, 반응용액에서의 고형분의 비율이 펙틴의 추출에 미치는 영향을 조사하기

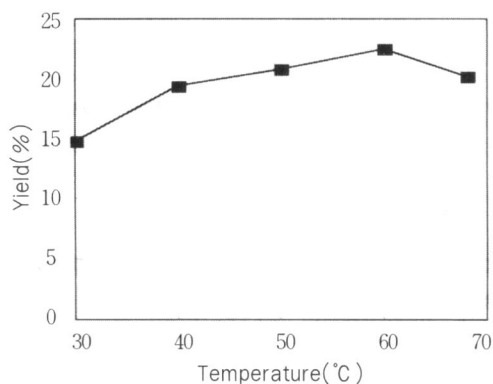


Fig. 1. Effect of incubation temperature on the extraction of soluble pectin from water-alcohol insoluble pectin of pear pomace by exopolysaccharidase. The enzyme reaction was carried out at pH 7.8 with 48 hr of reaction.

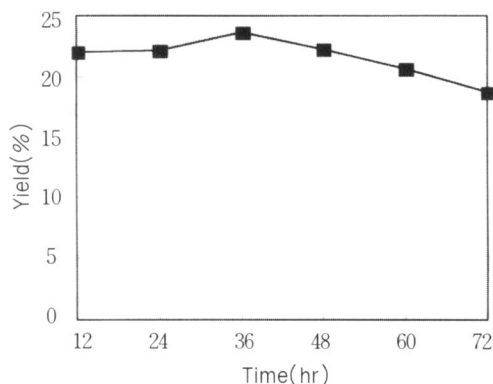


Fig. 2. Effect of incubation time on the extraction of soluble pectin from water-alcohol insoluble pectin of pear pomace by exopolysaccharidase. The enzyme reaction was carried out at 60°C, pH 7.8 of reaction.

위하여 기질과 효소의 비를 10:1로 유지하면서 농도만을 변화하면서 측정한 결과(Table 2), 지금까지 수행하였던 바와 같이 반응용액에서 기질인 WAIP를 1% 첨가하고 효소를 0.1% 가하였을 때 20%의 펙틴이 추출되어 가장 수율이 높았다.

한편, 효소에 의해 추출된 펙틴을 기존의 산처리 방법에 의한 펙틴과 비교 분석하기 위하여 배박의 불용성 펙틴인 WAIP에 산을 처리하여 수용성 펙틴을 추출한 결과, 약 6.2%의 펙틴 추출 수율이 있었다 (Table 3).

4. 추출 펙틴의 특성

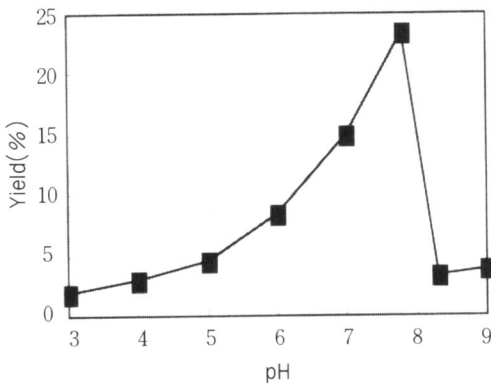


Fig. 3. Effect of pH on the extraction of soluble pectin from water-alcohol insoluble pectin of pear pomace by exo-polygalacturonase. The enzyme reaction was carried out at 60 °C, 36 hr of reaction.

추출된 펙틴의 순도를 galacturonic acid 함량으로 측정하였으며 추출율에서 가장 많은 차이를 나타내었던 각 pH별로 추출된 펙틴에 대해서 조사하였다 (Table 3). 이 결과, 전체적으로 순도는 50%이하를 나타내었으며 특히 염기성인 pH 8과 pH 9에서 각각 46.0%와 49.5%를 나타낸 반면 추출율이 높았던 pH 7 부근에서는 이보다 낮은 35% 미만의 순도를 가진 펙틴이 추출되었다. 또한 사과박의 펙틴 추출시⁶⁾ 80.1%의 고순도의 펙틴이 EPG에 의해 추출된 것보다도 상반되는 결과를 나타내었다. 이러한 현상은 사과박과 배박의 세포벽 구조의 차이에 기인하는 것으로 생각된다. pH 7 부근에서 추출된 펙틴은 산처리 펙틴의

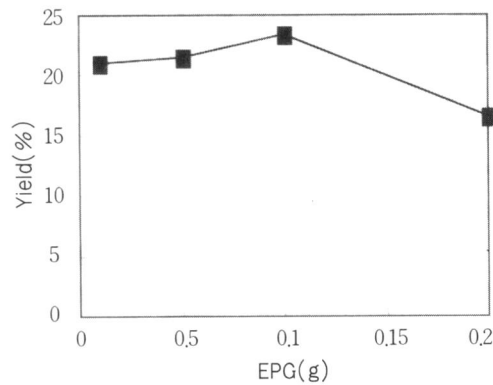


Fig. 4. Effect of the ratio of exo-polygalacturonase to water-alcohol insoluble pectin of pear pomace on the extraction of soluble pectin. The enzyme reaction was carried out at 60°C, pH 7.8, 36 hr of reaction.

Table 2. Comparison of the yields for the concentration ratio of water-alcohol insoluble pectin(WAIP) and exo-polygalacturonase(EPG) in enzymatic extraction

Concentration of WAIP (%)	Concentration of EPG (%)	Yield (%)
10	1	4.6
5	0.5	7.9
1	0.1	20
0.5	0.05	5.2

순도인 71.7%보다 낮은 순도를 나타내었지만 수율에 순도를 곱한 실질적인 추출률을 살펴보았을 때, 산처리 펙틴의 경우 4.4%인 반면 pH 7.8에서는 약 8.1%로 pH 7.8 조건이 다른 조건들 보다 배박 펙틴의 추출에 대해 용이함을 알 수 있었다.

펙틴의 galacturonic acid 부분에 에스테르결합되어 있는 methoxyl기는 펙틴의 응용에 대해 큰 영향을 미친다. 이론적으로 펙틴의 모든 galacturonic acid가 methoxyl기와 결합되어 있으면 16.32%의 methoxyl 함량을 나타내며, 일반적으로 7% 이상의 methoxyl 함량인 펙틴은 고 methoxyl 함량 펙틴으로 분류되어 식품에 널리 이용된다²²⁾. 본 연구의 경우, 산 처리 펙틴의 경우 5.0%의 methoxyl 함량을 나타내었으며 최적조건에서 추출된 효소 처리 펙틴의 경우 0.7%로 나타나 산처리 펙틴에 비해 큰 차이를 나타내었다(Table 3). 또한 pH별로 추출된 펙틴에 대해 각각 조사한 결과, methoxyl 함량이 다양하게 나타났으며 특히, pH 5와 pH 6에서는 고methoxyl 함량의 펙틴이 추출된 반면 최적조건인 pH 7.8에서는 저methoxyl 함량의 펙틴이 추출되었다(Table 3). 따라서 산업적인 펙틴 추출시 pH를 생산하고자 하는 펙틴의 조건에 따라 조절한다면 고methoxyl 함량의 펙틴과 저methoxyl 함량의 펙틴을 다양하게 생산할 수 있을 것으로 생각된다.

한편, 추출된 펙틴의 고유점도를 측정하여 평균 분자량을 산출한 결과, 최적조건인 36시간, pH 7.8, 60°C에서 EPG로 추출된 펙틴은 2.5×10^5 으로 나타나 산으로 추출된 펙틴의 8.4×10^3 과 사과박으로부터의 EPG 추출 펙틴의 1.5×10^4 보다도⁶⁾ 분자량이 적은 펙틴이 추출되었다. 이렇게 배박 추출 펙틴의 분자량이 낮은 원인은 먼저 기질의 차이에 기인하는 것으로 사료되며 또한 60°C라는 높은 반응 온도로 인해 펙틴 분자가 더욱 소편화 되었을 것이라 추측된다.

IV. 결론

배는 우리나라에서 기호도가 높은 과실 중의 하나이며, 1996년부터 배의 가공품인 음료수로 상업화되어 그 시장성을 확대해 나가고 있다. 1997년에는 21만여톤의 배가 국내에서 생산되어 그중 약 3만톤이 가공품용으로 이용되었고 향후 계속 증가할 추세이다. 배 가공 후의 부산물(이하 배박)은 전량 비료로 이용되고 있으나, 이로부터 부가가치성이 높은 기능성 소재를 회수할 수 있다면 배 재배 농가의 소득 증대에 크게 기여할 것이다. 본 연구는 이점에 착안하여 배박으로부터 효소를 이용하여 기능성 식품소재인 펙틴을 생산하고자 하였다.

Table 3. Comparison of enzyme soluble pectins and acid soluble pectins

	Treated pH	Yield (%)	Purity (%)	Real yield ³⁾ (%)	Methoxyl content (%)
ESP ¹⁾	3.0	2.0	19.3	0.4	6.8
	4.0	3.0	27.6	0.8	4.7
	5.0	4.6	30.2	1.4	9.8
	6.0	8.4	35.8	3.0	7.6
	7.0	15.0	30.1	4.5	2.6
	7.8	23.4	34.7	8.0	0.7
	8.2	3.3	46.0	1.5	6.0
ASP ²⁾	9.0	3.9	49.5	1.9	4.1
	1.3	6.2	71.1	4.4	5.0

¹⁾Enzyme soluble pectin obtained by exo-polygalacturonase.

²⁾Acid soluble pectin.

³⁾Real yield was calculated from purity and yield.

배박으로부터 효소 또는 산의 작용만으로 추출할 수 있는 펙틴의 양을 조사하기 위하여 물과 알콜 가용성 펙틴을 제거한 water-alcohol insoluble pectin (WAIP)을 제조하였다. 제조된 WAIP에 존재하는 총 galacturonic acid의 함량은 34.6%로 측정되었으며, 물과 알코올로 제거된 galacturonic acid의 함량은 18.6%로 나타나 배박의 세포벽에는 불용성 펙틴이 다량 함유되어 있는 것으로 나타났다. EPG를 이용한 펙틴 추출의 최적조건을 조사한 결과 60°C, 36시간, pH 7.8로 그 추출률은 23.2%로 측정되었다. 기질과 효소 반응 최적비를 측정한 결과 10:1(w/w)에서 23.4%로 가장 높은 추출 수율을 나타내었다. 그리고 대조용으로 실시한 산처리를 통한 펙틴 추출수율은 약 6.2%로 효소적인 방법보다 수율이 낮았다. 펙틴의 순도를 측정한 결과 산 추출 펙틴은 71.7%이었고, 효소를 이용하여 추출한 펙틴은 34.7%로 나타났다. 또한 methoxyl 함량을 측정한 결과 산 추출 펙틴은 5.0%, 효소 추출 펙틴은 0.7%로 저methoxyl 펙틴으로 나타났다. 한편, 추출된 펙틴의 평균 분자량은 효소 추출 펙틴의 경우 2.5×10^5 이었으며, 산 추출 펙틴의 경우 8.4×10^5 으로 나타나 분자량이 적은 펙틴이 추출되었다. 따라서 본 연구의 EPG에 의해 추출된 펙틴은 기존의 점증제, 겔화제로서보다는 식이섬유로서 음료첨가물로 이용하는 것이 유리할 것으로 기대된다.

결과적으로, 효소적인 방법은 산추출 방법에 비해 훨씬 많은 양의 펙틴을 추출할 수 있었으나 펙틴의 특성은 다소 떨어져 향후 이 문제들에 대한 보완 연구가 수행되어야 할 것이다. 그러나 효소적인 방법은 제조과정시 전혀 산이 첨가되지 않아 소비자 기호에도 맞을 뿐만 아니라 환경친화적이어서 산업적인 가능성이 클 것으로 기대된다.

참고문헌

1. 강희정, 송영선, 1997, "식이섬유와 콜레스테롤 대사", 『한국식품영양과학회지』 26(2): pp.358-369.
2. 이승철, 육현균, 황용일, 1997, "유기용매의 처리에 따른 *Bacillus subtilis* IFO 12113유래 proto-

- pectinase의 회수", 『한국농화학회지』 40(2): pp.107-111.
3. 이승철, 고보성, 김향미, 황용일, 1997, "Protopectinase생산균주, *Rhizopus* sp. R2의 분리 및 감자조직의 단세포화를 위한 최적조건", 『한국산업미생물학회』 33(2): pp.131-135.
4. 이승철, 고보성, 이대회, 황용일, 1997, "Protopectinase를 이용한 식물조직의 단세포화", 『한국식품영양과학회지』 26(3): pp.430-435.
5. 이승철, 육현균, 황용일, 최정선, 조용진, 1999, "Bacillus subtilis IFO 12113유래 protopectinase를 이용한 사과박의 펙틴 추출", 『한국농화학회지』 42(1): pp.1-5.
6. 이승철, 육현균, 배성문, 황용일, 최정선, 조용진, 1999, "Exo-polygalacturonase를 이용한 사과박의 펙틴 추출", 『한국식품과학회지』 31(1): pp.68-73.
7. 최동원, 1996, "효소에 의한 사과 세포벽 펙틴 추출", 『한국식품영양과학회지』 9(4): pp.413-418.
8. A. O. A. C., 1980, Official Methods of Analysis, 14th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington, D. C., pp.129-133.
9. Blumenkrantz, N. and Asboe-Hansen, G., 1973, "New method for quantitative determination of uronic acid.", Anal. Biochem. 54: pp.484-489.
10. Dixon, M. and Webb, E.C., 1979, Enzyme: Effect of temperature, 3rd ed, Longman Group Press, London, Great Britain, pp.164-182.
11. John, M. A. and Dey, P. M., 1986, "Postharvest changes in fruit cell wall.", Adv. Food Res. 30: pp.139-193.
12. Klavons, J. A. and Bennett, R. D., 1986, "Determination of methanol using alcohol oxidase and its application to methyl ester content of pectins.", J. Agric. Food Chem. 34: pp.597-599.
13. Launay, B., Doublier, J. L. and Cuvelier, G., 1986, Functional properties of food macromolecules: Flow properties of aqueous solutions and dispersions of polysaccharides, Mitchell, J. R. and

- Ledward, D. A.(eds.), Elsevier Applied Science Publishers, New York, USA, p.6.
14. May, C. D., 1992, Thickening and Gelling Agents for Food: Pectins, Imeson, A.(ed.), Blackie Academic & Professional, New York, USA, pp. 124-152.
 15. Ministry of Agric. & Forestry., 1998, '97 Processing status of fruits and vegetables.
 16. Mitsui, T., Hashimoto, N., Deguchi, K., Hirano, M. and Igaue, L., 1990, "Isolation of plant mesophyll protoplasts with an endo-polygalacturonase from *Trichosporon penicillatum*.", *Plant Tissue Cult. Lett.* 7: pp.14-18.
 17. Renad, C. M, G. C., Voragen, A. G. J., Thibault, J. F. and Pilnik, W., 1990, "Extraction of insoluble pectin by chemical means.", *Carbohydr. Polym.* 40: pp.9-25.
 18. Rombouts, F. M. and Pilnik, W., 1979, "Utilization of pectic enzymes in food production.", *Dev. Food Sci.* 2: pp.264-268.
 19. Sakai, T. and Okushima, M., 1982, "Purification and crystallization of a protopectin-solubilizing enzyme from *Trichosporon penicillatum*.", *Agric. Biol. Chem.* 46: pp.667-676.
 20. Sakai, T. and Yoshitaka, S., 1984, "Purification and some properties of a protopectin-solubilizing enzyme from *Galactomyces reessii* strain L.", *Agric. Biol. Chem.* 48: pp.1941-1950.
 21. Sakai, T., Okushima, M. and Yoshitaka, S., 1984, "Purification, crystallization and some properties of endopolygalacturonase from *Kluyveromyces fragilis*.", *Agric. Biol. Chem.* 48: pp.1951-1961.
 22. Sakai, T., Sakamoto, T., Hallaert, J. and Vandamme, E. J., 1993, "Pectin, pectinase and protopectinase: production, properties and applications.", *Adv. Appl. Microbiol.* 39: pp.213-294.
 23. Sakamoto, T., Hours, R. A. and Sakai, T., 1995, "Enzymic pectin extraction from protopectins using microbial protopectinases.", *Process Biochem.* 30: pp.403-409.
 24. Sakai, T., Hours, R. and Nakamura, T., 1995, "Enzymatic maceration of vegetables with protopectinases.", *J. Food Sci.* 60: pp.468-472.
 25. Suzuki, H., Abe, T., Urade, M., Nisizawa, K. and Kuroda, A., 1967, "Nature of the macerating enzymes from *Rhizopus* sp.", *J. Ferment. Technol.* 45: pp.73-85.