

Polygalacturonase와 젤라틴을 병용한 과실주스의 청징화

허 병 석 · 김 재 욱
서울대학교 식품공학과

Clarification of Fruit Juice by the Use of Polygalacturonase and Gelatin

Byung-Suk Hur and Ze-Uook Kim

Department of Food Science and Technology, College of Agriculture,
Seoul National University, Suwon, Korea

Abstract

The effect of gelatin concentration, pH of fruit juice and other factors for the enzymatic clarification of fruit juice by the use of polygalacturonase was studied. The proper addition of gelatin was much effected on clarification by polygalacturonase and optimum concentrations of gelatin for the enzymatic clarification of Zugaru juice, Magnolia Gold juice, Golden Delicious juice, Jonagold juice, Jonathan juice, Campbell Early juice were 0.04%, 0.01%, 0.02%, 0.06%, 0.01%, and 0.04%, respectively. Optimum pH for the clarification by the use of polygalacturonase and gelatin was 3.2~3.5 contrary to optimum pH 4.8 of polygalacturonase for the hydrolysis of pectic acid. At the reaction temperature of 45°C and polygalacturonase concentration of 0.01mg/ml, fruit juices were completely clarified by optimum addition of gelatin for 60min.

서 론

사과와 포도 과즙은 보통 청징 투명 주스를 많이 만드는데, 여러 가지 청징 방법¹⁻⁵⁾이 쓰이고 있으나 효소적 방법이 가장 많이 이용되고 있으며 펙틴분해 효소로서 polygalacturonase(PG), pectin esterase(PE)와 pectin lyase가 사용되고 있다. Endo⁶⁻⁸⁾, Yamasaki 등¹⁴⁻¹⁶⁾ 및 Hara 등⁹⁾은 PG와 PE 한가지 만으로는 사과주스를 청징할 수 없으나, 두 가지를 병용하면 청징할 수 있다고 하였고, Ishii와 Yokotsuka¹⁰⁻¹³⁾는 사과주스는 pectin lyase만으로도 청징되나, 포도주스와 같이 ester화가 작은 과실 주스는 PG를 병용해야만 청징 시간을 단축할 수 있다고 하였다.

현재까지의 효소적 청징 이론에는 Endo⁹⁾의 3

단계 이론 및 Yamasaki 등¹⁶⁾의 2 단계 이론이 있다.

한편 Nebuck¹⁹⁾는 펙틴 분해 효소에 의한 과실 주스의 청징에서 gelatin을 병용하면 청징 시간이 단축된다고 하였으나, Ishii와 Yokotsuka¹¹⁾는 pectin lyase를 사용한 과실주스의 효소적 청징에 gelatin을 첨가하여도 별 효과가 없었다고 보고하였다. 한편 Endo⁸⁾는 gelatin이 청징제로서 비효소적인 3 단계 응집 반응을 촉진한다고 하였고 Yamasaki 등¹⁶⁾은 gelatin이 효소 작용을 저해하는 tannin 물질을 제거하는 성질을 가지고 있다고 보고²⁰⁻²²⁾ 하였으나 과실주스의 효소적 청징에 gelatin이 어떤 영향을 미치는가는 잘 알려져 있지 않다.

본 연구에서는 polygalacturonase만을 사용한 과실주스의 효소적 청징에 gelatin의 첨가농도, 과실 주스의 pH 등이 미치는 영향을 규명하고 과실

1989년 9월 26일 수리

Corresponding author : B.S. Hurh

주스의 종류 및 품종별 청정 특성을 조사하였다.

재료 및 방법

재료

1) 과실 : 사과는 쟈가루(Zugaru), 골든 딜리셔스(Golden Delicious), 홍옥(Jonathan), 마그놀리아 골드(Magnolia Gold), 조나 골드(Jonagold), 포도는 Campbell Early 품종을 농촌진흥청 원예 시험장에서 구한 알맞는 숙기의 것을 사용하였다.

2) 효소 및 시약 : Polygalacturonase (EC 3.2.1.15, polygalacturonide glyconohydrolase)는 Fuka 사제를, 그리고 각종 시약은 GR 혹은 EP급을 사용하였다.

실험 방법

1) 과실 주스의 제조 : 과실을 세척, 마쇄, 여과하여 얻은 과즙을 60°C에서 10분간 열처리한 후 냉각고에 보관하면서 사용하였으며, 과일 주스의 품종별 pH는 Table 1과 같다.

Table 1. pH of fruit juice

Fruit juice	pH
Campbell Early	3.15
Golden Delicious	3.60
Magnolia Gold	3.89
Jonagold	3.59
Jonathan	3.34
Zugaru	3.91

2) 단백질 정량 : 280nm에서의 흡광도(A₂₈₀)와 260nm에서의 흡광도(A₂₆₀)를 측정하여 다음 식으로 단백질량을 계산하였다²³⁾.

$$\text{단백질 (mg/ml)} = 1.55 A_{280} - 0.76 A_{260}$$

3) Polygalacturonase 역가 측정 : Pectic acid를 기질로 하여 효소작용에 의하여 생성된 환원당을 Somogyi-Nelson 방법²⁴⁾으로 측정하였다.

즉, 0.1M citrate-phosphate 완충 용액에 녹인 0.1% pectic acid 용액 10ml에 0.35mg/ml PG용액 0.1ml를 가하고 45°C에서 10분간 반응시켰다. 이것에 2N HCl 용액 2ml를 넣어 반응을 중지시켜 원심 분리하였다. 이 상등액 1ml와 0.35N NaOH 용액 1ml를 시험관에 넣고 copper reagent 1

ml를 가하고 20분 열처리하여 식힌 것에 arsenomolybdated color reagent 1ml를 넣고 500nm에서 흡광도를 측정하였다. Blank는 증류수를 사용하고 상기 조건하에서 10min간 반응시켰다.

4) 과실 주스의 효소적 청정도 측정 : 과실 주스 36ml에 gelatin 용액(혹은 증류수) 2ml와 PG 용액 2ml를 가하고 45°C에서 일정시간 반응시켰다. 이것을 5분간 열처리하여 반응을 중지시키고 상온으로 식힌 다음 3,000xg에서 5분간 원심분리하여 얻은 상등액을 660nm에서 투과도를 측정하여 청정정도로 하였다.

5) 과실 주스의 pH 조절 : 과실 주스에 고체 citric acid나 Na₂CO₃를 녹여 pH를 조절하였다.

6) 점도 측정 : 점도는 Brookfield viscometer를 이용하여 45°C에서 측정하였다.

결과 및 고찰

Polygalacturonase(PG)와 gelatin 병용 효과를 알기 위하여 PG에 gelatin을 첨가한 것과 첨가하지 않은 것의 투과도 측정 결과는 Fig. 1, 2와 같았다.

즉 PG만 사용한 경우는 쟈가루 사과 주스와 Campbell Early 포도 주스 다같이 10분까지는 투과도가 급격히 증가하였으나 60분이 지나도 청정되지 않았으며 gelatin을 0.01%로 첨가하였을 때는 쟈가루 사과 주스는 20분, Campbell Early 포도 주스는 30분 정도에서 완전히 청정되었다. 이러한 결과는 PG와 PE를 병용해야만 청정된다는 Endo⁶⁻⁸⁾, Yamasaki 등¹⁴⁻¹⁶⁾ 및 Hara 등⁹⁾의 보고

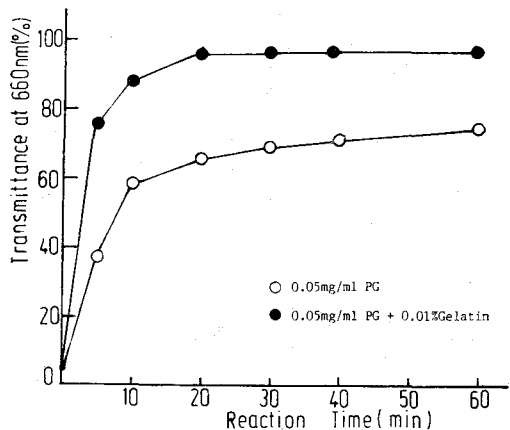


Fig. 1. Effect of gelatin on clarification of Zugaru juice

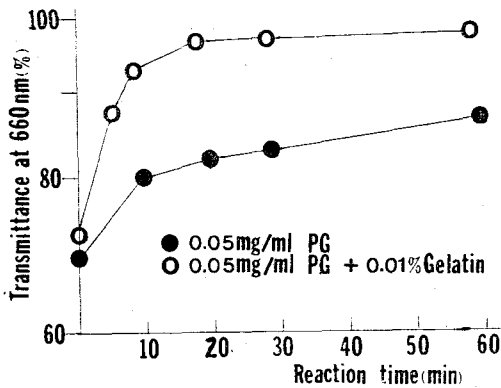


Fig. 2. Effect of gelatin on clarification of Campbell Early juice

와는 달리 PG만 사용하여도 gelatin를 첨가하면 과실 쥬스가 청징되는 것을 알 수 있다. 한편 찌가루 사과 쥬스에 비해 Campbell Early 쥬스의 경우 gelatin 첨가 효과가 작게 나타난 것은 Campbell Early 포도 쥬스의 자체 투과도가 70% 정도로 높기 때문이라고 생각된다.

Gelatin의 첨가 농도가 PG와 gelatin을 병용한 과실 쥬스의 청징에 미치는 영향을 알기 위하여

찌가루 사과 쥬스 및 Campbell Early 포도 쥬스는 PG 농도 0.05mg/ml에서 5분간, 홍옥과 조나골드 및 골든 델리셔스 사과 쥬스는 PG 농도 0.01mg/ml에서 20분, 마그놀리아 골드 사과 쥬스는 PG 농도 0.01mg/ml에서 10분간 각각 반응시켰을 때 gelatin의 첨가농도를 달리하여 측정할 투과도는 Table 2와 같았다.

즉, gelatin 농도를 높이면 어느 점까지 투과도가 높아지다가 감소하는 것으로 보아 gelatin 최적농도가 있음을 알 수 있다. 과실 쥬스의 청징을 위한 gelatin 최적농도는 과실에 따라 다르며 찌가루 사과 쥬스 및 Campbell Early 포도 쥬스는 0.04%, 마그놀리아 사과 쥬스 및 홍옥 사과 쥬스는 0.01%, 골든 델리셔스 사과 쥬스는 0.02%, 조나골드 사과 쥬스는 0.06%였다. 대체적으로 PG만 사용해서는 청징하기 어려운 찌가루 사과 쥬스, 골든 델리셔스 사과 쥬스 및 조나골드 사과 쥬스의 경우에는 gelatin의 첨가 효과가 크게 나타났다. 한편 Ishii와 Yokosuka는 pectin lyase를 사용한 과실 쥬스의 효소적 청징에서 gelatin을 첨가하여도 효과를 얻지 못하였는데 그것은 gelatin을 과량 첨가했기 때문이라 생각된다.

과실 쥬스의 pH가 청징에 미치는 영향을 알기

Table 2. Effect of gelatin concentration on clarification of fruit juice

Concentration of gelatin (%)	Transmittance at 660nm(%)					
	Zugaru***	Early	Golden** Delicious	Magnolia* Gold	Jonathan**	Jonagold**
0.000	37.6	75.6	1.8	43.2	63.2	33.9
0.001	39.4	82.3	—	—	—	—
0.005	60.5	86.4	—	—	—	64.2
0.008	—	—	—	61.5	67.8	—
0.010	75.8	86.9	34.7	80.0	77.1	86.6
0.020	89.6	88.1	87.0	72.5	48.7	92.2
0.030	—	—	77.6	—	—	—
0.040	95.6	89.9	63.8	68.0	28.5	93.7
0.050	92.8	89.3	—	—	—	—
0.060	—	—	22.7	—	—	94.7
0.070	87.6	85.9	—	—	—	—
0.080	—	—	—	3.12	21.3	86.2
0.100	55.5	80.5	—	—	—	77.1
0.200	3.1	67.8	4.1	3.9	11.3	61.0

* PG 0.01mg/ml, 10min reaction
 ** PG 0.01mg/ml, 20min reaction
 *** PG 0.05mg/ml, 5min reaction

위하여 썬가루 사과즙과 Campbell Early 포도즙에 PG는 0.01mg/ml, gelatin은 0.01%로 하되 pH를 달리하여 5분간 반응시켜 측정된 투과도는 Fig. 3과 같았고, 여러가지 pH에서 PG의 pectic acid 분해 역가를 측정된 결과는 Fig. 4와 같았다.

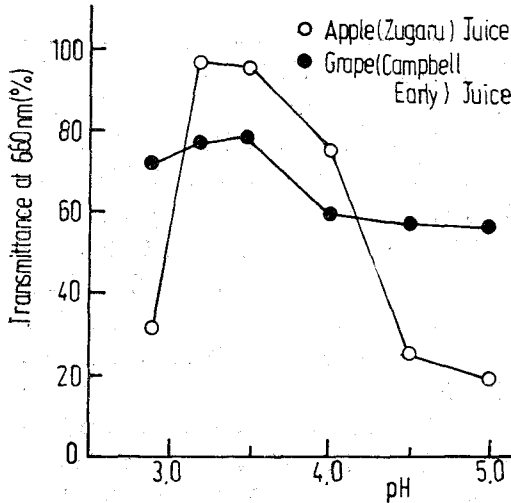


Fig. 3. Effect of pH on clarification of apple juice

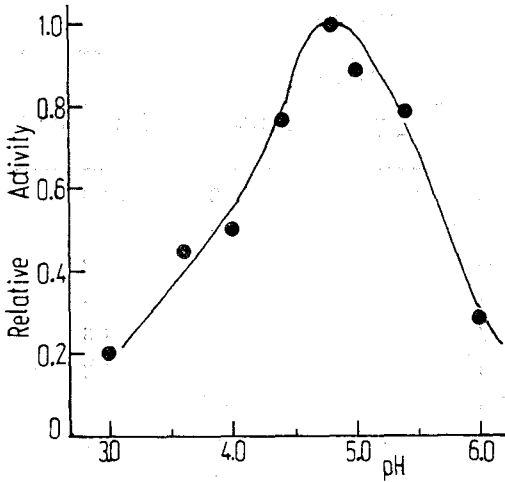


Fig. 4. Effect of pH on PG activity

즉, PG의 pectic acid 분해 최적 pH는 4.8이 있으며 썬가루 사과즙과 Campbell Early 포도즙의 최적 pH는 3.2~3.5였다. Pectic acid 가수분해 최적 pH와 효소적 청정을 위한 최적 pH가 큰 차이를 보이는 것은 Yamasaki 등¹⁶⁾의 보고와 같이 과일즙의 효소적 청정은 pectin 물

질의 효소적 가수분해 반응 뿐만 아니라 최적 pH가 2.2인 비효소적인 정전기적 응집반응에 의해 일어나기 때문이라고 생각된다. 한편 사과와 포도즙은 pH가 3~4이므로 특별히 pH를 조절할 필요가 없으리라고 생각된다.

과실즙의 점도 및 청정에 대한 gelatin 첨가의 영향을 알기 위하여 썬가루 사과즙에 여러 농도로 gelatin을 첨가하고 점도를 측정된 결과는 Table 3과 같았으며, 썬가루 사과즙의 투과도와 점도를 측정된 결과는 Fig. 5 및 Fig. 6과 같다.

Table 3. Relation between viscosity of Zugaru juice and gelatin concentration.

Gelatin concentration (%)	0.0	0.04	0.10	0.20
Viscosity (cp)	1.60	1.63	1.67	1.74

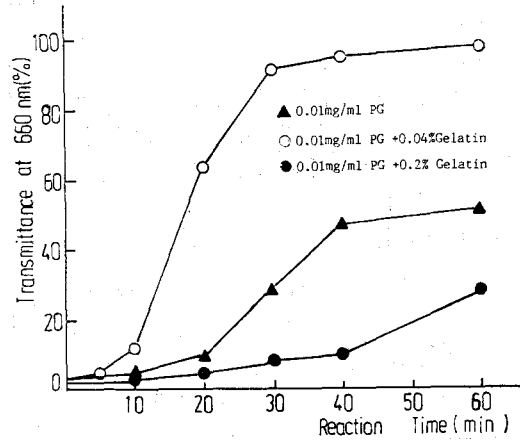


Fig. 5. Effect of gelatin on the clarification of Zugaru apple juice

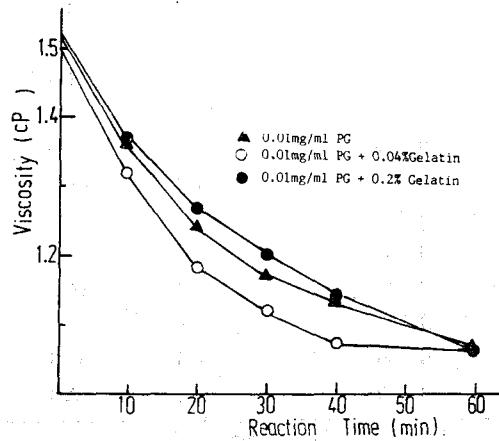


Fig. 6. Change in viscosity during enzymatic clarification of Zugaru apple juice

즉, gelatin을 넣지 않은 점도 1.60cP에서 gelatin 농도가 높을수록 점도가 높아지고 있다. 사과 주스의 청정도는 gelatin 첨가농도에 따라 차이가 큰데, gelatin을 넣지 않은 때와 0.2% 첨가는 60분 반응에도 투과도가 각각 45% 및 28%로 청정되지 않았으나 0.04%에서는 40분에 완전히 청정되었다. 그러나 gelatin 첨가 농도에 따른 점도 변화는 별 차이가 없어 gelatin 첨가로 인한 점도 상승이 과실 주스의 효소적 청정에 미치는 영향은 작을 것으로 생각된다. 따라서 점도의 감소로 현탁 물질의 비효소적 응집 반응이 일어난다는 Endo[®]의 이론보다는 비효소적 응집 반응으로 과실주스가 청정되어 점도가 떨어진다고 생각된다. 과실 주스의 종류 및 품종별 효소적 청정 특성

을 알기 위하여 PG 농도를 0.01mg/ml로 하고 반응 시간별로 투과도를 측정한 결과는 Fig. 7~11과 같았다.

즉, 홍옥 사과 주스(pH 3.34)는 gelatin을 넣지 않을 때와 0.2% gelatin 경우에는 60분 반응에 투과도가 85%와 45%로써 청정되지 않았으나 gelatin 최적 농도인 0.01%일 때는 60분 반응으로 완전히 청정되었다. 마그놀리아 골드 사과 주스(pH 3.89)는 gelatin을 넣지 않을 때와 0.2% gelatin 경우에 60분 반응에도 투과도가 90%와 70%로 청정되지 않았으나, gelatin 최적 농도인 0.01%에서는 30분만에 완전히 청정되었다. 조나골드 사과 주스(pH 3.59)는 gelatin을 넣지 않을 때와 0.2% gelatin 경우에는 60분 반응에도 투과도가 각각

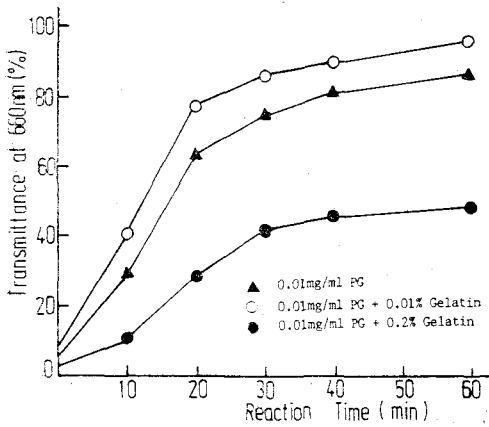


Fig. 7. Enzymatic clarification of Jonathan apple juice

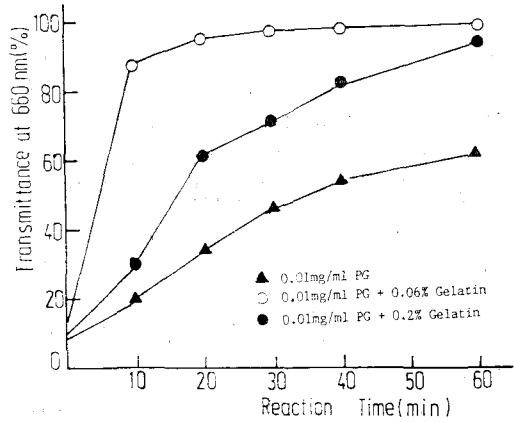


Fig. 8. Enzymatic clarification of Magnolia Gold apple juice

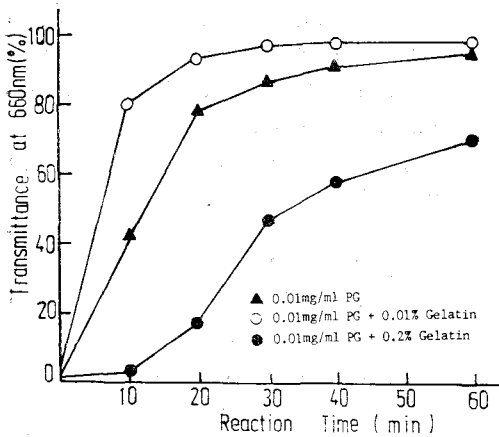


Fig. 9. Enzymatic clarification of Jonagold apple juice

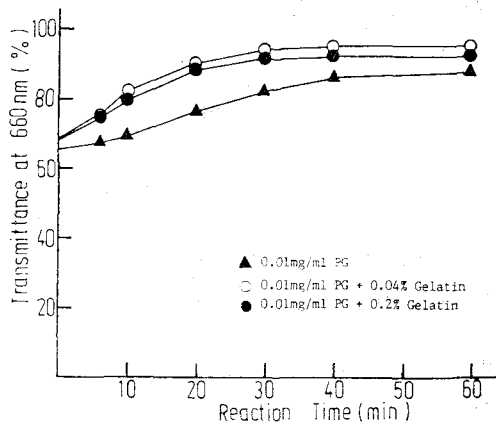


Fig. 10. Enzymatic clarification of Campbell E. apple juice

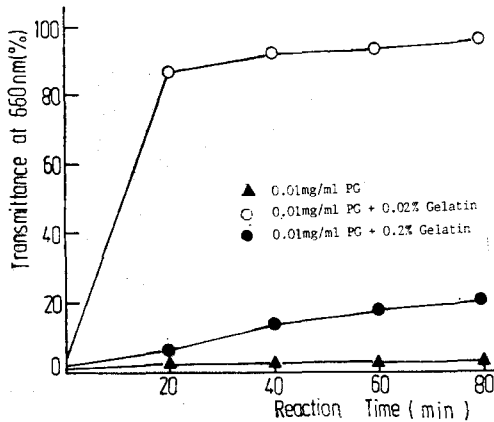


Fig. 11. Enzymatic clarification of Golden Delicious juice

62%와 90%로 청정되지 않았으나 gelatin 최적 농도인 0.06%에서는 완전히 청정되었다. Campbell Early 포도 주스(pH 3.15)는 gelatin을 넣지 않을 때와 0.2% gelatin을 가한 경우 40분 반응까지는 투과도가 증가하다가 둔화되었으나 gelatin 최적 농도인 0.04%일 경우에는 40분만에 완전히 청정되었다. 골든 딜리셔스 사과 주스(pH 3.60)는 gelatin을 넣지 않을 때와 0.2% gelatin 때는 청정이 되지 않았으나 gelatin 최적 농도인 0.02%에서는 40분에 완전히 청정되었다.

이상의 결과에서 과실 주스의 종류 및 품종간에 약간의 차이는 있으나 PG만으로는 잘 청정되지 않았으며, 적당량의 gelatin을 넣었을때 완전히 청정되었다. 과일의 종류 및 품종에 따라 차이를 보이는 것은 과일의 성분 차이 때문이라고 생각된다.

요 약

과실 주스에 대한 polygalacturonase의 청정에 있어 gelatin 농도, 과실주스 pH 등의 영향을 알기 위한 연구 결과 polygalacturonase를 사용한 청정에 적당량의 gelatin을 첨가하면 효과가 큰데, 쟈가루 사과 주스 및 Campbell Early 포도 주스는 0.04%, 골든 딜리셔스 사과 주스 0.02%, 마그놀리아 골드 및 홍옥 사과 주스 0.01%, 조나폴드 사과 주스는 0.06%가 각각 gelatin 최적 첨가 농도였다. Polygalacturonase의 pectic acid 분해 최적 pH는 4.8이나 polygalacturonase와 gelatin을

병용한 청정 최적 pH는 3.2~3.5였으며, gelatin 농도에 따라 청정도는 큰 차이를 보이나 접도는 별 차이가 없었다.

0.01mg/ml의 polygalacturonase 농도로써 45°C에서 반응시키면, 과실의 종류 및 품종에 관계없이 60분에도 잘 청정되지 않았으나, 조나폴드 사과 주스는 gelatin 0.06% 첨가로 30분 정도, 마그놀리아 골드 및 홍옥 사과 주스는 0.01% 첨가로 각각 30분, 60분 정도, 쟈가루 사과 주스 및 Campbell Early 포도 주스는 0.04% 첨가로 40분 정도, 골든 딜리셔스 사과 주스는 0.02% 첨가로 40분 정도에서 각각 완전히 청정되었다.

참 고 문 헌

1. 김재욱 : 신편 식품가공학, 문운당, p.170 (1988)
2. Kirk, D.E. et al.: J. of Food Sci., 48 : 1663 (1983)
3. Fukutani, K. and Ogawa, H.: Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi, 33(2) : 108(1986)
4. Kime, R.W.: United States Patent 4, 327, 115(1984)
5. Mclellan, M.R. et al.: J. of Food Sci., 50 : 206(1985)
6. Endo, A.: Agr. Biol. Chem., 29(2):129(1965)
7. Endo, A.: Agr. Biol. Chem., 29(2) : 137 (1965)
8. Endo, A.: Agr. Biol. Chem., 29(3) : 229 (1965)
9. Hara, T. et al.: Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi, 33(5) : 336(1986)
10. Ishii, S. and Yokotsuka, T.: J. Agr. Food Sci., 19(5) : 958(1971)
11. Ishii, S. and Yokotsuka, T.: J. Agr. Food Sci., 20(4) : 787(1972)
12. Ishii, S. and Yokotsuka, T.: Agr. Biol. Chem., 36(1) : 146(1972)
13. Ishii, S. and Yokotsuka, T.: J. Agr. Food Chem., 21(2) : 269(1973)
14. Yamasaki, M. et al.: Agr. Biol. Chem., 28 : 779(1964)
15. Yamasaki, M. et al.: Agr. Biol. Chem., 30 : 1119(1966)
16. Yamasaki, M. et al.: Agr. Biol. Chem., 31

- : 1552(1967)
17. Johnson, G. et al.: J. of Food Sci., 33 : 254 (1968)
18. Hawthway, D.E. et al.: Biochem. J., 17 : 696(1958)
19. Neubeck, C.E.: Enzymes in Food Processing, 2nd ed., Academic Press, pp.411~412.
20. Nakagawa, M.: Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi, 19(11) : 531(1968)
21. Nakabayashii, T.: Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi, 15(11) : 503(1968)
22. Oh, H.L. et al.: J. of Food Sci., 51(3) : 577 (1986)
23. Warburg, O. and Christian, W.: Biochem. Z., 310 : 384(1941)
24. Nelson, N.: J. Biol. Chem., 153 : 375(1944)