

Bacillus subtilis IFO 12113 유래 Protopectinase를 이용한 사과박의 펙틴 추출

이승철* · 육현균 · 황용일 · 최정선¹ · 조용진¹

경남대학교 식품공학과, ¹한국식품개발연구원

초 록 : Protopectinase는 불용성의 프로토펙틴을 수용화시켜 펙틴을 생산하는 효소로서, 사과박으로부터 펙틴추출을 위한 최적 pH, 반응시간, 반응온도를 조사하였다. 효소 작용 최적조건은 pH 7.8, 60°C에서 48시간의 반응시간이었으며, 펙틴 추출률은 34.3%이었다. 최적조건에서 protopectinase에 의해 추출된 펙틴의 순도는 52.9%이었으며, methoxyl 함량은 2.75%로서 저 methoxyl 함량의 펙틴이었다. 효소 반응 온도와 시간은 펙틴의 추출률과 methoxyl 함량에 크게 영향을 미치지 않았지만 반응 pH는 사과박의 펙틴 추출률과 methoxyl 함량에 크게 영향을 미쳤다. 최적조건에서 추출된 펙틴의 고유점도와 분자량은 각각 0.178 ml/g과 4,900이었다.(1998년 12월 2일 접수, 1999년 1월 10일 수리)

서 론

펙틴은 galacturonic acid와 methanol을 주성분으로 하는 다당류로서, 식물조직의 세포벽이나 중엽에서 발견된다.^{1,2} 펙틴은 식물세포의 기계적 강도를 유지하거나 세포간의 결합, 조직의 강도, 응집성 및 점조성 등에 영향을 미친다.³ 펙틴은 특유의 성질로 말미암아 식품에서 겔화제, 안정제, 점증제 등으로 이용되며, 또한 의약, 화장품 등에 널리 이용되어져 왔다.⁴ 최근에는 정장 작용, 콜레스테롤 저하 효과, 지방대체제로서의 기능성 등이 보고되어 그 사용량이 계속 증가하고 있다.⁵

펙틴은 산이나 알칼리 처리를 통하여 식품으로부터 단계적으로 얻을 수 있으며, 산업적으로는 감귤류의 껍질이나 사과박에 고온의 산 용액을 처리하는 화학적 방법을 사용하고 있다.⁶ 그러나 산처리 방법은 불순물을 함유하여 펙틴의 순도를 낮추어 기능성을 저하시키고 기기를 부식시키며 수질오염을 야기하는 등의 단점을 가지고 있다. 이러한 단점들을 보완하기 위한 방안으로 hemicellulase, cellulase 등의 효소를 이용하여 펙틴을 추출하는 연구가 보고되었다.⁷ Protopectinase(PPase)는 불용성의 프로토펙틴으로부터 수용성의 펙틴을 방출하며, 식물의 부패에 관여하는 미생물과 토양 미생물에 많이 존재한다.^{8,9} PPase는 cellulose와 결합된 펙틴의 중성당 결사슬을 분해하거나, homogalacturonan 부분을 분해한다.¹⁰⁻¹² PPase는 식물성 식품소재에 대한 단세포화,^{13,14} 식물세포의 protoplast 생산¹⁵ 등에도 응용된다고 보고되었으며, 그 중요성은 점차 증가하고 있다. 사과박의 펙틴은 세포벽의 cellulose나 hemicellulose에 에스테르결합되어 프로토펙틴의 형태로 존재하고 있으며, 사과의 숙성에 따라 일부가 가용성 펙틴으로 전환된다. PPase는 프로토펙

틴을 제한 가수분해하고, 토양 미생물로부터 대량 생산이 가능하므로 펙틴 추출에 매우 효과적이라 기대된다.

따라서, 본 연구에서는 PPase라는 효소를 이용하여 효소가 가지고 있는 식물세포벽의 선택적 수용화에 의한 고품질, 고수율의 펙틴 생산기술을 개발하고자 *Bacillus subtilis* IFO 12113에서 생산된 PPase를 이용하여 사과박의 펙틴 추출 효과를 분석하였으며, 추출된 펙틴의 특성을 조사하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

본 연구에서 사용한 건조 사과박은 경북농금조합 생산공장(경북 군위군)에서 수거한 것으로 hammer mill로 분쇄하여 80 mesh체를 통과시킨 잔사를 -10°C에서 저장하면서 실험에 사용하였다. *Bacillus subtilis* IFO 12113은 Institute of Fermentation, Osaka(IFO)에서 구입하였으며, alcohol oxidase (EC 1.1.3.13)는 Sigma사(St Louis, MO., U.S.A)에서 구입하였다. 그 외 시약들도 특급품 이상을 사용하였다.

조효소 분말의 조제

Bacillus subtilis IFO 12113 균주를 Luria Bertani(LB)배지 (0.5% yeast extract, 1% tryptone, 0.5% sodium chloride, pH 7.0)에서 전배양과 본배양을 수행하였다. 본배양 후 배양액을 4,000×g에서 15분간 원심분리시키고 그 상등액을 Toyo No. 2 여과지에 여과시킨 것을 배양 상등액으로 사용했으며 배양 상등액에 대해서 ethanol 분획침전법을 이용하여 단백질을 침전시킨 후 원심분리하여 회수하고 동결건조하여 조효소 분말을 조제하였다.⁸

찾는말 : 펙틴, protopectinase, 사과박

*연락처자

사과박으로부터 Water-Alcohol Insoluble Pectin(WAIP)의 제조

사과박 10 g을 증류수 20 ml에 혼합한 후 마쇄기(AM-T, Nihonseiki Kaisha LTD, Japan)를 이용하여 30초간, 2회에 걸쳐서 사과박을 잘게 마쇄하였다. 여과지(Whatman No. 2)로 사과박의 마쇄물을 걸러낸 후, 그 여과물에 95% ethanol 20 ml를 가하여 20분간 가열하였다. 이것을 다시 여과한 후 그 여과물에 95% ethanol 20 ml를 가하여 한번 더 여과하고, 최종적으로 그 여과물에 99.5% acetone 20 ml를 가하여 여과한 후 동결건조시켜서 WAIP를 얻었다.²⁰⁾

WAIP로부터 Enzyme Soluble Pectin(ESP)의 제조

20 mM의 각 buffer 100 ml (pH 3.0, citrate buffer; pH 4.0, acetate buffer; pH 5.0, acetate buffer; pH 6.0, sodium phosphate buffer; pH 7.0, 7.8 sodium phosphate buffer; pH 8.2, Tris buffer; pH 9.0, glycine buffer)에 WAIP 1 g과 효소를 첨가한 후 배양기(HB-201 SF)에서 온도와 시간을 달리 하여 100 rpm으로 진탕하며 반응시켰다. 반응이 끝난 후 10,500×g에서 10분간 원심분리하였다. 상침액을 여과지로 여과한 후 100°C에서 10분간 가열하고, acetone량이 전체량의 70%가 될 때까지 잘 저으면서 첨가하였다. 그 후 19,000×g에서 10분간 원심분리시켜 침전물(enzyme soluble pectin)을 acetone으로 씻은 후 동결건조기에서 건조시켰다.²⁰⁾

펙틴의 순도 및 methoxyl 함량 측정

펙틴의 순도는 추출 펙틴의 galacturonic acid를 m-hydroxy-diphenyl법으로 측정하였으며, 측정된 galacturonic acid의 양을 시료 양에 대한 백분율로 나타내었다.¹⁹⁾ 0.01%(w/v)의 펙틴 용액 0.5 ml를 냉수에서 5분 동안 식힌 뒤 황산을 용매로 하여 만든 12.5 mM의 sodium tetraborate 3 ml를 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 0.05 ml 첨가하여 잘 혼합한 뒤 20분 후에 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질은 0.001~0.010% galacturonic acid를 사용하였다.

펙틴의 methoxyl 함량은 0.001~0.010% methanol을 표준 물질로 사용하여 추출된 galacturonic acid 내의 carboxyl 기의 에스테르화 정도를 Klavons & Bennett법¹⁷⁾으로 측정하였다. 추출 펙틴 3 mg을 증류수 5 ml에 녹인 뒤 1.0 N potassium hydroxide 용액을 5 ml 첨가하고 실온에서 30분간 정치시킨 후, 5%(v/v) o-phosphoric acid를 이용하여 용액의 pH를 7.5로 맞추는 뒤 전체 용액이 20 ml가 되게끔 50 mM potassium phosphate buffer(pH 7.5)를 첨가하여 stock solution을 제조하였다. Stock solution 중 1 ml를 취하여 1 unit/ml의 alcohol oxidase를 50 mM potassium phosphate buffer(pH 7.5)에 용해시킨 용액 1 ml를 첨가한 후 25°C에서 15분간 반응시키고, 2.0 M ammonium acetate와 0.05 M acetic acid에 용해된 0.02 M pentan-2,4-dione용액 2 ml를 첨가하고 잘 혼합한 뒤 60°C에서 15분간 열처리를 하고 실온에서 식힌 뒤 412 nm에서 흡광도를 측정했다.

펙틴의 분자량 분석

펙틴의 분자량은 고유 점도로부터 산출하였다. 펙틴의 고유점도는 Cannon-Fenske capillary viscometer를 이용하여 측정하였다. 일정량의 펙틴을 증류수에 넣고 상온에서 1시간 교반한 후, 이를 0.45 μm membrane filter에서 여과하여 10 ml의 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 은 용액의 점도, η_s 는 용매의 점도, C는 용액의 농도이다. 펙틴의 분자량은 위에서 구한 고유점도를 다음의 Mark-Houwink¹⁸⁾ 식에 대입하여 계산하였다.

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

$$\text{즉, } M = (4,630 \times [\eta])^{1.2658}$$

결과 및 고찰

WAIP로부터 ESP(enzyme soluble pectin)의 제조

Protopectin을 제한 가수분해하여 수용성 펙틴을 생산하는 효소는 pectin releasing enzyme, protopectin solubilizing enzyme, 또는 protopectinase(PPase)라고 불려지고 있으며, 그 작용기작에 따라 homogalacturonan을 분해하는 A형태와 cellulose와 결합된 펙틴의 중성당 결사슬을 분해하는 B형태가 현재 밝혀져 있으며 본 연구에 이용된 *Bacillus subtilis* IFO 12113 균주는 B 형태의 PPase를 생산한다.¹⁹⁾

사과박으로부터 PPase에 의한 펙틴 추출의 최적 조건을 구하기 위하여 먼저 반응시간을 변화시키면서 효소 반응을 수행하였다(Fig. 1). 효소 반응 조건을 60°C, pH 7.8로 고정하고, 반응용액 100 ml에 기질인 WAIP 1 g과 효소인 PPase 0.05 g을 가하고 반응시간만을 변화시켜 추출된 수용성 펙

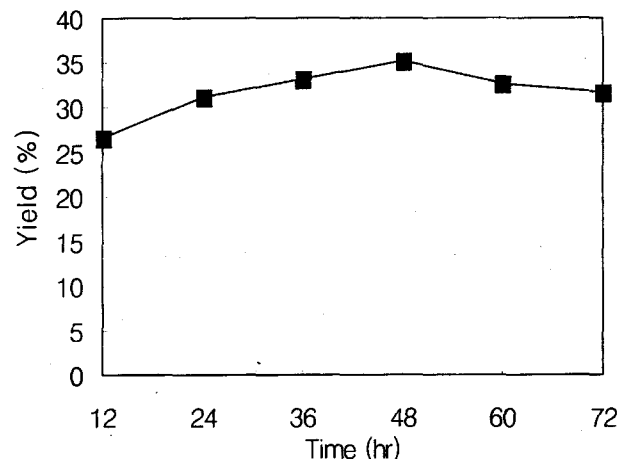


Fig. 1. Effect of reaction time on the extraction of soluble pectin from WAIP by protopectinase at 60°C, pH 7.8.

틴을 측정하였다. 이 결과, 반응시간이 증가하면서 추출되는 펙틴의 양도 증가하여 반응시간이 48시간일 때 추출률이 35.2%로 가장 높았으며, 그 이상의 시간에서는 감소하였다. 이는 추출된 펙틴이 조효소 분말 내에 존재하는 소량의 polygalacturonase에 의하여 부분적으로 분해되는 것으로 추측된다. 또한 본 연구에서 조사한 12시간에서 72시간까지의 시간범위에서 시간의 영향은 비교적 적었으며 산업적인 가능성을 고려한다면 더 짧은 반응시간도 펙틴 추출에 이용할 수 있을 것으로 생각된다.

효소 반응 pH의 영향을 조사하기 위하여 반응시간을 48시간으로 고정하고 그 외의 조건은 Fig. 1과 같이 하면서 반응 pH를 변화시켜 PPase의 펙틴 추출에 대한 영향을 조사하였다(Fig. 2). 이 결과, 산성에서 중성으로 갈수록 추출되는 펙틴의 양이 증가하여 pH 7.8에서 WAIP의 32.3%가 수용성 펙틴으로 추출되었으며, 염기성으로 갈수록 급속도로 추출률은 감소하였다. 단세포화를 위한 PPase의 반응 최적 pH는 일반적으로 산성(pH 5)으로 보고되어 있으나,⁹⁾ 사과박에서의 불용성 펙틴에 대한 반응은 중성부근에서 최적을 나타내어 기질에 대한 효소의 반응 기작이 다소 차이가 있음을 보였다.

반응온도에 따른 PPase의 영향을 조사하기 위하여 반응시간은 48시간으로, 반응 pH는 7.8로 고정하고 그 외의 조건은 Fig. 1과 같이 하면서, 온도를 변화시키면서 펙틴 추출률을 측정하였다(Fig. 3). 본 연구에서 조사한 30°C에서 68°C까지의 온도 범위에서 온도의 영향은 비교적 적었으며, 60°C에서 35.4%로 가장 추출률이 높았다. 온도에는 효소의 안정성과 기질의 안정성, 그리고 효소의 반응속도가 인자로 작용하며, 이들의 복합적 연관작용 결과 60°C에서 최적 조건이 형성됨을 알 수 있었다.

본 연구에 이용된 PPase의 경우, exo-polygalacturonase (EPG)를 이용하여 사과박의 펙틴을 추출²⁰⁾(pH 7, 60시간, 45°C)하였을 때의 27.1%의 추출률보다 7.2% 수율이 증가하였다. 또한 두 효소의 반응 최적조건에서 pH의 경우, 중성

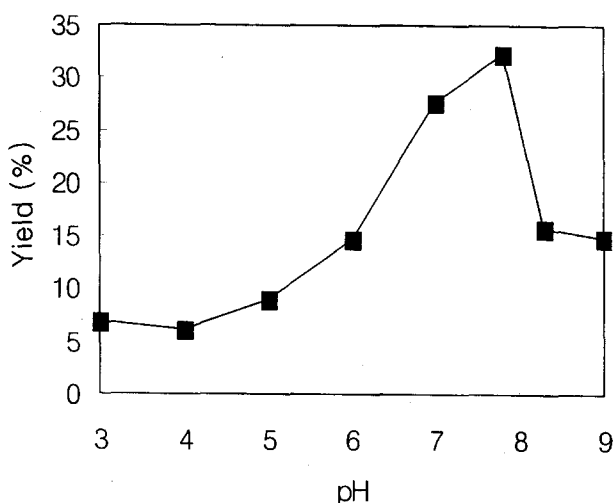


Fig. 2. Effect of pH on the extraction of soluble pectin from WAIP by protopectinase at 60°C, 48 hr.

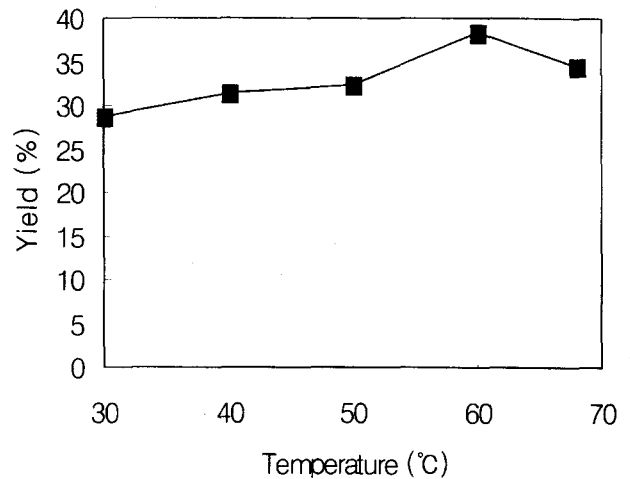


Fig. 3. Effect of reaction temperature on the extraction of soluble pectin from WAIP by protopectinase at pH 7.8, 48 hr.

의 비슷한 pH부근에서 최고의 추출률을 나타낸 반면 온도와 시간에서는 서로 상이한 조건을 나타내었다. 이러한 원인은 A 형태에 속하는 EPG와 B 형태에 속하는 PPase의 사과박의 펙틴에 대한 분해기작의 차이에 기인한다.

추출된 펙틴의 특성 조사

추출된 펙틴의 순도를 galacturonic acid 함량으로 측정하였으며 추출률에서 가장 많은 차이를 나타내었던 각 pH별로 추출된 펙틴에 대해서 조사하였다(Table 1). 이 결과, 산성인 pH 3과 염기성 부근의 pH에서는 약 80% 이상의 고순도 펙틴이 추출된 반면 추출률이 높았던 pH 7 부근에서는 이보다 낮은 65% 미만의 순도를 가진 펙틴이 추출되었다. 이러한 현상은 pH 7 부근에서 조효소 분말에 존재하는 소량의 hemicellulase와 cellulase의 작용으로 세포벽의 다른 성분의 용출에 기인하는 것으로 생각되며 산성인 pH 3과 염기성 부근에서는 pH에 의해 이러한 효소들의 활성이 저해되어 펙틴의 순도에 영향을 미치지 못한 것으로 판단된다. pH 7 부근에서 추출된 펙틴은 산처리 펙틴의 순도인 75.7%²⁰⁾보다 낮은 순도를 나타내었지만 수율에 순도를 곱한 실질적인 추출률을 살펴보았을 때, 산처리 펙틴의 경우²⁰⁾ 6.1%인 반면 pH 7과 pH 7.8에서는 약 17%로 pH 7 부근의 pH 조건이 다른 조건들 보다 사과박 펙틴의 추출에 대해 용이함을 알 수 있었다. 또한 EPG에 의해 추출된 펙틴²⁰⁾의 순도

Table 1. Purity and real yield of extracted pectins by PPase on each pH

pH	Purity (%)	Real yield (%) ¹⁾
3	88.2	6.08
4	65.8	4.08
5	75.2	6.77
6	81.4	11.97
7	64.4	17.77
7.8	52.9	17.08
8.2	88.3	13.95
9	82.5	12.29

¹⁾Real yield was calculated from purity and yield.

Table 2. Methoxyl content of extracted pectins by PPase on each pH

pH	Methoxyl content (%)
3	8.51
4	9.81
5	8.97
6	8.42
7	4.88
7.8	2.75
8.2	7.07
9	6.10

인 80.1%과 비교했을 때 낮은 단점이 있었지만 hemicellulase를 이용하여 사과의 펙틴을 추출하였을 때의⁷⁾ 12.5%의 순도보다는 높아 차후 PPase를 순수한 정제품을 이용한다면 순도를 높이는 데 기여할 것이다.

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 이용된다.²⁾ 본 연구에서는 pH별로 추출된 펙틴에 대해 조사하였으며 그 결과, 산성부근의 pH에서는 고 methoxyl 함량의 펙틴이 추출되었고, 중성과 염기성부근에서는 저 methoxyl 함량의 펙틴이 추출되었다(Table 2). 이러한 현상은 조효소 분말에 존재하고 있는 소량의 methylesterase에 의해 산성부근에서는 그 효소활성을 상실하여 methoxyl 함량에 영향을 끼치지 못한 반면, 중성과 염기성부근에서는 methylesterase의 활성화에 의해 methoxyl 함량에 영향을 미친 것으로 생각된다. 따라서 산업적인 펙틴 추출시 pH를 생산하고자 하는 펙틴의 조건에 따라 조절한다면 고 methoxyl 함량의 펙틴과 저 methoxyl 함량의 펙틴을 다양하게 생산할 수 있는 이점이 있을 것으로 생각된다. 또한 저 methoxyl 함량의 펙틴은 고 methoxyl 함량의 펙틴과 달리 설탕을 전혀 첨가하지 않아도 2가 이상의 금속이 존재하면 겔의 망상구조를 만들 수 있으므로 저 칼로리 식품에 대한 겔화제로서 이용가능하다.

한편, 추출된 펙틴의 고유점도를 측정하여 평균 분자량을 산출한 결과, 최적조건인 48시간, pH 7.8, 60°C에서 PPase로 추출된 펙틴은 4.9×10^5 로 나타났으며(Table 3), EPG 추출 펙틴의 1.5×10^4 과 산추출 펙틴의 7.66×10^4 보다도 분자량이 작은 펙틴이 추출되었다.²⁰⁾ 따라서 본 연구의 PPase에 의해 추출된 펙틴은 기존의 점증제, 겔화제로서보다는 식이섬유로서 음료첨가물로 이용하는 것이 유리할 것으로 기대된다.

Table 3. Intrinsic viscosity and average molecular weight on extracted pectin by PPase under optimal condition

Intrinsic Viscosity ($[\eta]$)	Average Molecular Weight ^{a)}
0.178	4.9×10^5

^{a)}Molecular weights were calculated from intrinsic viscosity.

감사의 글

이 논문은 농림부에서 시행한 농림수산특정연구사업 연구비 지원에 의한 연구결과와 일부로서, 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Rombouts, F. M. and Pilnik, W. (1979) Utilization of pectic enzymes in food production. *Dev. Food Sci.* **2**, 264-268.
- Sakai, T., Sakamoto, T., Hallaert, J. and Vandamme, E. J. (1993) Pectin, pectinase and protopectinase; production, properties and applications. *Adv. Appl. Microbiol.* **39**, 213-294.
- John, M. A. and Dey, P. M. (1986) Postharvest changes in fruit cell wall. *Adv. Food Res.* **30**, 139-193.
- May, C. D. (1992) In 'Pectins: Thickening and Gelling Agents for Food,' p.124-152, Imeson, A.(ed.), Blackie Academic & Professional, New York.
- Kang, H. J. and Song, Y. S. (1997) Dietary fiber and cholesterol metabolism. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **26**, 358-369.
- 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**, 9-25.
- Choi, D. W. (1996) A study on pectin extraction from apple cell wall by enzyme. *Korean J. Food. Nutr.* **9**, 413-418.
- Lee, S. C., Yuk, H. G. and Hwang, Y. I. (1997) Recovery yields of protopectinase depending on treatments organic solvents. *Agric. Chem. Biotechnol.* **40**, 107-111.
- Lee, S. C., Ko, B. S., Kim, H. M., Kim, K. W. and Hwang, Y. I. (1997) Isolation of *Rhizopus* sp. R2 producing protopectinase and optimum condition for preparing single cells from potato tissues. *Korean J. Microbiol.* **33**, 131-135.
- Sakai, T. and Okushima, M. (1982) Purification and crystallization of a protopectin-solubilizing enzyme from *Trichosporon penicillatum*. *Agric. Biol. Chem.* **46**, 667-676.
- Sakai, T. and Yoshitaka, S. (1984) Purification and some properties of a protopectin-solubilizing enzyme from *Galactomyces reessii* strain L. *Agric. Biol. Chem.* **48**, 1941-1950.
- Sakai, T., Okushima, M. and Yoshitaka, S. (1984) Purification, crystallization and some properties of endopolygalacturonase from *Kluyveromyces fragilis*. *Agric. Biol. Chem.* **48**, 1951-1961.
- Sakai, T., Hours, R. and Nakamura, T. (1995) Enzymatic maceration of vegetables with protopectinases. *J. Food Sci.* **60**, 468-472.
- Lee, S. C., Ko, B. S., Lee, D. H. and Hwang, Y. I. (1997) Cell separation of vegetable tissues by protopectinase. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **26**, 430-435.
- 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**, 14-18.
- Bluemenkrantz, N. and Asboe-Hansen, G. (1973) New method for quantitative determination of uronic acid. *Anal. Biochem.* **54**, 484-489.
- 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**, 597-599.
18. Launay, B., Doublier, J. L. and Cuvelier, G. (1986) In 'Functional properties of food macromolecules: Flow properties of aqueous solutions and dispersions of polysaccharides,' p.6, Mitchell, J. R. and Ledward, D. A.(eds.), Elsevier Applied Science Publishers, New York.
19. Sakai, T., Ikemoto, K. and Ozaki, Y. (1989) Purification, crystallization and characterization of a novel protopectinase from *Bacillus subtilis*. *Agric. Biol. Chem.* **53**, 1213-1223.
20. Lee, S. C., Yuk, H. G., Bae, S. M., Hwang, Y. I., Choi, J. S. and Cho, Y. J. (1999) Extraction of pectin with exo-polygalacturonase from apple pomace. *Korean J. Food Sci. Technol.* **31**(1), 68-73.

Extraction of Pectin from Apple Pomace with Protopectinase produced by *Bacillus subtilis* IFO 12113

Seung-Cheol Lee*, Hyun-Gyun Yuk, Yong-Il Hwang, Jung-Sun Choi¹ and Yong-Jin Cho¹(*Department of Food Engineering, Kyungnam University Masan 631-701 Korea; ¹Korea Food Research Institute, Sungnam 463-420, Korea*)

Abstract : For effective utilization of apple pomace, protopectinase(PPase) produced from *Bacillus subtilis* IFO 12113 was used for pectin extraction from apple pomace. Optimal conditions for enzyme treatment were found at 60°C, pH 7.8, 48 hours with 20:1 ratio of substrate to enzyme. The yield of extracted pectin from water-alcohol insoluble pectin by enzyme at optimal condition was 34.3%. The purity and methoxyl content of extracted pectin by PPase at optimal condition were measured as 52.9% and 2.75%, respectively. Intrinsic viscosity and average molecular weight of extracted pectin by enzymatic method were 0.178 ml/g and 4.9×10^3 , respectively.

Key words : pectin, protopectinase, apple pomace

*Corresponding author