

Protopectinase를 이용한 참다래의 가공 특성

이대희 · 이승철 · 황용일[†]

경남대학교 생명과학부

Processing Properties of Kiwifruit Treated with Protopectinase

Dae-Hee Lee, Seung-Cheol Lee and Yong-Il Hwang[†]

Division of Life Sciences, Kyungnam University, Masan 631-701, Korea

Abstract

In development of the processed food, it is important not only to make the food delicious but to enhance its storage span and thermal stability without change of the food quality in color, which greatly affects the tastes of customers. Protopectinase (PPase) from *Bacillus subtilis* EK11 hydrolyses or dissolves protopectin in the middle lamella of plant tissues with the resultant separation of plant cells from each other, called enzymatic maceration. With the PPase, kiwifruit was enzymatically macerated to separate cells to primary cell wall without damage. Yields of kiwifruit treated with PPase and mechanical maceration were 82% and 60%, respectively. Total and reducing sugars, crude protein and fat in the enzymatic maceration were well preserved as in the mechanical maceration. Importantly, over 95% of vitamin C, which is the most unstable component in application of the mechanical maceration, remained with intact form for one day after the enzymatic treatment. When the suspensions of kiwifruit macerated with both treatments had been stored at 4°C for 6 days, the suspension of kiwifruit mechanically macerated was decolorized. Whereas decolorization was not found in the enzymatically macerated kiwifruit. Moreover, the mechanically macerated kiwifruit was greatly deteriorated after heat treatment at 100°C for 60 min; the cell suspension of the enzymatically separated kiwifruit appeared to be stable, indicating the thermal stability. Thus, the PPase treatment could be a better choice for preparation of the highly valuable and functional processed food of kiwifruit as well as for prolonging the preservation period of the processed kiwifruit.

Key words: protopectinase, protopectin, middle lamella, maceration, primary cell wall

서 론

참다래(kiwifruit: *Actinidia deliciosa* or *chinensis* Planch)는 동남아시아 원산의 넝쿨성 낙엽과수로서 원산지는 중국의 양자강 유역이며 우리 나라에는 1977년 뉴질랜드에서 종자를 도입하여 남해안 일대와 제주도에 생산되고 있다(1). 참다래에는 80 mg% 이상의 많은 비타민 C를 함유하고 있으며, hexanal로 대표되는 독특한 향과 비타민 E 등 비타민의 함량이 다른 과일류보다 비교적 높다(2). 무기질의 함량도 사과, 포도류보다 2~3배 높으며(2,3), 특히 단백질의 분해효소인 actinidin을 함유하고 있어서 소화율 돕고 육류나 생선의 연화제, 뼈에서 단백질 추출시, 비스킷공장에서 밀가루 반죽시, 생가죽 가공 등에 이용되고 있다. 이와 같은 특성을 갖는 참다래는 생산량과 소비가 해마다 증가하여 최근 10년 사이에 15배 이상 증가하였으며 일부는 수출까지 하고 있다(1).

참다래를 포함한 과일과 채소를 식품재료로 이용한 가

공에서 가장 문제가 되는 것은 열처리 및 기계적 마쇄로 인한 영양 및 생리활성 성분들의 파괴, 색이나 향기와 같은 기호성분의 변화, 부유물질의 생성 등이다. 최근 한외여과를 이용하여 고온살균 과정 중에서 야기되는 향미의 손실과 비타민 C와 같은 영양성분의 파괴를 감소시키고 동시에 미생물을 제거함으로써 쥬스의 저장성을 향상시키는 방법이 보고되고 있다(4,5). Climacteric fruit인 참다래는 후숙과정에서 수용성 pectin substances의 분해로 인하여 firmness가 감소하여 상처로 인한 상품가치의 하락과 climacteric rise후 급격한 품질연화로 유통기간이 그리 길지 못하다(6). 이러한 문제를 개선할 수 있는 방법 중의 하나가 참다래의 단세포화이다. 단세포화 효소, protopectinase(PPase)는 식물세포에 있어 세포와 세포간의 중엽부(middle lamella)의 주성분을 이루며 pectin의 모체가 되는 불용성 protopectin을 제한 가수분해하여 수용성 pectin을 생산하는 효소로서 그 작용기작과 생산 미생물들이 보고되고 있으며(7-10), Fig. 1에서와 같이 식물

[†]To whom all correspondence should be addressed

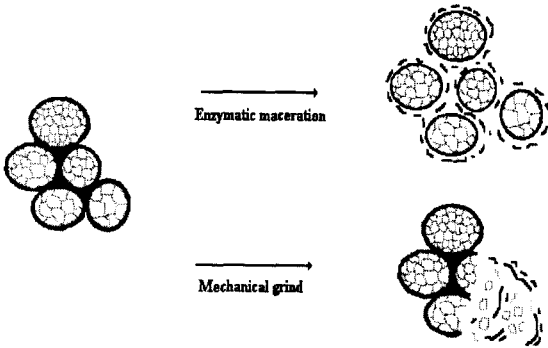


Fig. 1. Schematic illustration of enzymatic or mechanical maceration.

조직을 구성하는 세포가 각각의 생세포로 유리되어진다. *Bacillus subtilis* 유래의 PPase 분자량은 30,000 kDa 정도이며 반응 최적온도와 pH는 40°C와 8.0이다. PPase는 최근 식품, 의약품에서의 pectin 생산(11,12), 식물성 식품소재를 위한 단세포화(13), 식물세포의 protoplast 생산(14) 등에 응용성을 가진다고 보고되었으며, 그 중요성은 점차 증가하고 있다.

본 연구진들은 이미 PPase를 생산하는 균주를 다수 분리하였으며 *Bacillus* 균주의 배양액으로부터 유기용매를 이용하여 대량 추출하여 식물조직의 단세포화를 시도하였다(15,16). 본 연구에서는 PPase를 이용한 단세포화를 통하여 참다래의 가공시 영양 및 생리활성 성분의 파괴, 기호성분의 변화, 저장성 등의 문제를 동시에 개선시킬 수 있는 가능성을 조사하여 참다래의 이용성 증대에 대한 전망을 보고하고자 한다.

재료 및 방법

시약 및 재료

본 연구에서 사용한 한국산 참다래(kiwifruit: *Actinidia deliciosa* Planch)는 1998년도 경상남도 고성지방에서 재배된 Hayward 품종을 사용하였다. 미생물의 생육배지용 시약은 Difco Laboratories(Detroit, USA)에서 구입하였으며, 반응용 시약 및 분석용 시약은 Sigma(Louis, USA)에서 구입한 특급 및 1급 시약을 사용하였다.

PPase 생산균주 및 전배양

PPase 생산균주는 *B. subtilis* EK11(17)로 균주의 보존은 LB(1% tryptone, 1% NaCl, 0.5% yeast extract) 사면배지에 접종하여 생육시켰으며 PPase생산을 위한 효소 생산용 배지(17)는 corn starch(0.7%), yeast extract(0.3%), KH_2PO_4 (1.4%), K_2HPO_4 (0.6%), $\text{Na}_3\text{citrate} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0.1%), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.02%)를 첨가한 배지에서 24시간 배양하여 사용하였다.

PPase 건조분말 제조

조효소는 Lee 등(15)의 방법에 따라 조제하였다. *B. subtilis* EK11을 LB배지에서 12시간 전배양한 후 본배양액에 1%를 접종하여 24시간 배양하였다. 본배양 후 배양액을 15분간 원심분리(4,000×g)하여 얻어진 배양상징액을 여과하여 사용하였다. 배양상징액에 -20°C에서 보관한 ethanol을 4°C chamber에서 3.12 mL/min의 속도로 1:0.5(v/v) 비율로 첨가한 후 -20°C에서 12시간 방치하고 20분간 원심분리(12,000 rpm)하여 침전물은 제거하고 그 상징액에 최종비율이 1:1(v/v)의 비율로 다시 ethanol을 처리하여 침전시켰다. 위와 동일한 방법으로 -20°C에서 12시간 방치하고 20분간 원심분리하여 침전물을 얻었다. 침전물은 동결건조기에서 동결건조하여 PPase 건조분말을 회수하여 참다래 조직의 단세포화에 이용하였다.

식물조직의 단세포화 조제

PPase 건조분말을 최종효소 농도 0.5%가 되도록 증류수에 용해한 후 효소용액에 대해 20 mM 인산완충액으로 pH 8.0으로 보정하여 효소용액을 제조하였다. 50 mL의 효소용액에 박피한 참다래 조각(10×10×10 mm)을 5조각 넣은 후, 1:1(v/v)의 비율이 되게 하여 shaking incubator(100 rpm, 37°C)에서 8시간 동안 처리 후 40 mesh에 걸렸을 때 걸러진 것을 단세포액으로 하였다. 대조구는 효소를 첨가하지 않은 증류수에 동일량의 시료를 넣고 homogenizer(Nihonseiki Co., Tokyo, Japan)로 10,000 rpm에서 10분간 마쇄하였다. 처리된 각 시료의 현미경 관찰은 Labophoto 현미경(Nikon Co., Tokyo, Japan)을, 사진촬영은 AFX촬영기(Nikon Co., Tokyo, Japan)를 이용하였다.

색조변화와 열 안정성

참다래 조직에 PPase를 처리하여 단세포화된 과일액(단세포물)과 기계적으로 마쇄하여 얻어진 마쇄액(마쇄물)을 4°C 냉장고에서 일정기간 냉장 보관한 후 색조의 변화를 관찰하였다. 열 안정성은 각각의 단세포물과 마쇄물을 100°C에서 일정시간 간격으로 가열 처리하여 열안정성을 관찰하였다.

회수율 측정

참다래 조직에 PPase를 처리하여 얻어진 단세포물과 기계적 처리로 얻어진 마쇄물을 40 mesh에서 걸러 회수율을 비교하였다. 시료에 PPase를 처리하여 조직 전체를 단세포화시킨 후 40 mesh에서 걸러 단세포물을 얻었다. 대조구는 homogenizer로 마쇄한 후 마쇄물을 위와 동일한 방법으로 얻었다. 회수율은 전체 중량에 대한 착즙 후 잔사의 중량비를 백분율로 환산하여 제한 값을 표시하였다.

비타민의 정량 및 일반성분의 분석

단세포물 중의 비타민 C의 정량은 AOAC법에 따라 하였다(18). 참다래 단세포물을 메타 인산을 가하여 수회에 걸쳐 추출하여 정량하였다. 조지방, 조섬유, 조단백, 당류도 AOAC법으로 분석하였다(18).

결과 및 고찰

PPase를 이용한 참다래 단세포화

PPase를 생산하는 *B. subtilis* EK11(17)의 배양액으로부터 PPase 건조분말을 회수하여 참다래 조직에 처리하여 현미경으로 관찰하였다. Fig. 2에서와 같이 PPase로 처리한 경우에는 효소작용에 의해 조직 세포가 유리되어 각각의 세포로 나누어진 균일성을 보여주었다. 이는 PPase가 식물의 중엽부에 존재하는 protopectin을 가수분해하여 세포와 세포를 유리하는 것을 보여주는 것으로 PPase에 의한 참다래의 단세포화 가능성을 보여주고 있다. 그러나 대조군인 기계적으로 마쇄한 경우에는 단세포물과 비교할 때 세포과피에 의하여 조직을 구성하는 여러 가지 세포내부 물질이 과쇄 용출되어 성분이 불규칙적이며 정상적인 세포가 확인되지 않았다.

회수율 측정

참다래의 PPase 처리에 의한 단세포화 정도를 조사하

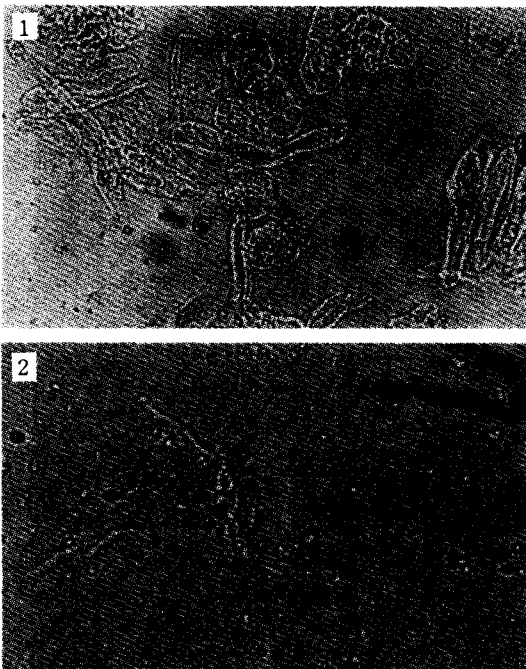


Fig. 2. Microphotographs of kiwifruit suspensions.

- (1): Treated with PPase ($\times 50$)
- (2): Mechanically macerated with homogenizer ($\times 100$)

고자 각각 PPase처리와 기계적 마쇄처리를 거친 후, 40 mesh에서 걸러 잔사물의 양 및 회수율을 조사하였다 (Table 1). PPase처리를 하였을 경우에는 회수율이 82%, 잔사물이 18%이었으나, 기계적 마쇄를 행한 경우에는 60%의 회수율과 40%의 잔사물이 발생하였다. 상기의 결과에서 PPase에 의한 단세포화 가공시 기계적 처리에 비하여 약 20%이상의 회수율 증가를 보여 PPase 처리가 참다래 과즙 회수에 있어 수율향상을 가져올 수 있음을 알 수 있다. 또한 폐기화되는 잔사물의 경우에서도 효소처리의 경우 18%로 기계적 마쇄의 40%에 비해 착즙 후의 폐기물량이 2배 이상 감소되었음을 보였다. 특히 잔사물 18%에는 PPase에 분해가 어려운 참다래의 씨와 과경이 주구성성분인 점을 감안하면 실제 회수율은 90% 이상임을 보여준다. 과일과 채소류에 대한 가공 중, 과즙 제조공정에서는 착즙 후 잔사물(찌꺼기)이 부산물로 발생하는 폐기물 처리가 큰 문제인데 PPase에 의한 효소처리는 착즙율의 향상 및 환경 오염물질의 감소라는 측면에서 장점으로 들 수 있다.

이화학적 성분 변화

참다래의 단세포화에 따른 내부성분의 안정성을 조사하기 위하여 기계적 마쇄 처리에 의한 회수율과 상호 비교하여 총당, 환원당, 자당, 조단백질, 조지방 및 조섬유에 대해 성분변화를 조사하였다. Table 2에서는 단세포물과 마쇄물간의 이화학적 성분변화를 비교한 결과로 총당, 환원당, sucrose의 경우 처리구별 큰 차이는 없었으나 전체 총당의 함량은 30%전후로 비슷하였고 회수물에서의 비교시 단세포물이 17.9%로 마쇄물의 14.8%보다 다소 높았고, 잔사에서는 기계적 마쇄처리한 것이 14.4%로 PPase처리 보다 약간 높았다. 환원당과 자당의 함량은 단세포물과 마쇄물간에 큰 차이는 없었으며 잔사의 경우도 마쇄물이 8.1%와 4.9%로 PPase처리와 비슷한 함량을 나타내었다. 과실의 단맛에 영향을 주는 요소는 각 유리당의 함량과 유기산의 비율이라고 Paul 등(19)은 보고하고 있다. 특히, 자당의 함량은 단맛의 증가와 큰 상관관계를 갖는다고 볼 때 PPase처리나 기계적 마쇄처리나 단맛은 비슷하게 유지된다고 하겠다.

조단백의 함량 변화는 거의 없었으나 기계적 마쇄처리한 잔사의 조섬유 함량과 PPase를 처리한 잔사에서 조지방의 함량이 약간 높아 보였으나, 전체적으로 구성성분의

Table 1. The ratio of recovery and waste from kiwifruit suspensions with treatment of PPase and mechanical maceration

Treatment ¹⁾	Recovery (%)	Waste (%)
PPase	82	18
Mechanical maceration	60	40

¹⁾Suspensions treated with PPase and mechanical maceration were filtered by 40 mesh sieve.

Table 2. Analysis of kiwifruit components treated by PPase and mechanical maceration

Treatment		Concentration (%)					
		Total sugar	Reducing sugar	Sucrose	Crude protein	Crude fat	Crude fiber
PPase	Recovery	17.9	7.4	4.7	0.06	0.63	0.04
	Waste	13.0	7.6	4.3	0.22	3.23	0.80
Mechanical maceration	Recovery	14.8	7.6	4.7	0.01	0.60	0.01
	Waste	14.4	8.1	4.9	0.17	3.01	1.15

함량변화에는 큰 차이가 없었다. 이는 단세포 처리에 의하여 이들 성분이 안정하게 유지됨을 알 수 있었다.

비타민 C 함량

식물조직을 기계적 처리나 효소적 처리에 의하여 세포벽이나 세포막을 파괴하였을 경우 세포내의 구성성분이 용출되며 이로 인하여 구성성분의 상당부분은 열이나 광선, 산, 알칼리에 의하여 변성된다. 그러나 단세포화하였을 경우에는 세포벽이 세포내의 구성성분을 보호하여 안정화 시킬 수 있다. 참다래를 단세포화하였을 경우 성분변화를 관찰하기 위하여 가장 불안정하며 일반적인 성분변화의 척도로 삼는 비타민 C를 대상으로 조사하였다. Fig. 3의 결과와 같이 단세포화 효소를 이용하여 얻어진 단세포물은 4°C에서 1일 경과 후, 비타민 C의 함량이 95% 이상 보존되는 것으로 보아 단세포에 의한 여타 성분의 안정성에 긍정적인 면을 보였다. 동일시간 경과 후 동일조건에서의 마쇄물의 경우에는 비타민 C는 67%의 잔량을 보여 상당량의 비타민 C가 파괴되었음을 알 수 있다. 상기의 결과로부터 PPase 처리로 얻어진 단세포물은 각 세포가 세포벽에 의하여 내부 구성성분이 보호를 받아 일반적인 구성성분이 안정하게 유지됨을 추측할 수 있다.

색조변화

참다래는 초기에는 선명한 초록색의 과육을 갖는 과실

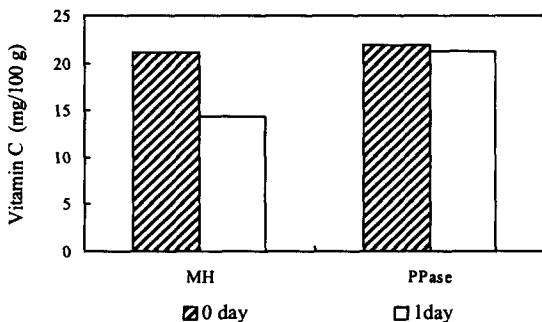


Fig. 3. The change of vitamin C in kiwifruit suspensions treated with PPase and mechanical maceration.
 MH: Recovery of mechanically homogenized kiwifruit suspension.
 PPase: Recovery of PPase-treated kiwifruit suspension.

로 숙성이 진행됨에 따라 과육의 녹색은 진해진다(20, 21). 참다래의 주요 색소는 chlorophyll과 carotenoid이며, 이는 숙성 진행도에 따라 많은 함량변화를 보인다고 한다(22,23). 원료 채소와 과일의 종류에 따라 가공시 과채류 과즙의 색깔과 부유물질의 성상은 중요한 기호 특성이 다. PPase 처리에 의한 참다래의 단세포물에서 색소의 안정성을 검토하기 위하여, 단세포물의 변화를 기계적 마쇄물의 변화를 대조구로 하여 저장기간에 따라 일어나는 변색정도를 관찰하였다(Fig. 4). 각각의 단세포물과 마쇄물을 4°C에서 6일 동안 보관하며 색조의 변화를 관찰한 결과, 마쇄물의 경우에는 3일 이후부터 변화가 관찰되었으며 6일경에는 변색 정도가 확연하였으나 PPase를 처리한 단세포화물의 경우에는 시간이 경과하여도 변색 정도가 외관상으로는 거의 미미하였다. 이는 Fig. 2에서와 같이 참다래 세포내의 색소체인 chlorophyll이 PPase 처리의 경우에는 두터운 세포벽과 세포막에 쌓여 보호되나, 기계적 마쇄에서는 세포의 파괴에 의하여 세포의 용액으로 유리되어 외부에 노출되었으며 이로 인해 변색이 일어난 것으로 추측된다. 상기의 결과에서 식물세포내의 성분이 PPase를 처리한 경우에는 세포내에 그대로 존재하여 외부요인에 대해 보호될 수 있으나, 기계적 마쇄에 의한 경우에는 세포내 구성분이 노출되어 변화될 수 있음을 알 수 있다. 즉, 식물세포체를 가공할 때, PPase로 처리하면 일반적 기계마쇄에 의한 공정보다 세포내에 존재하는 일반 구성성분 및 영양물질이 세포내에 안정된 상태로 유지됨을 의미한다.

열안정성 비교

열처리공정은 식물유래 식품의 가공에서 살균을 목적으로 하는 필수조작이다. PPase 처리에 의한 단세포물의 열 안정성을 조사하기 위해 일반적인 살균 처리조건인 100°C에서 60분까지 일정시간 간격으로 가열한 후, PPase에 의한 참다래의 단세포물과 기계적 마쇄물의 변화를 관찰하였다. Fig. 5의 결과와 같이 기계적 마쇄물에 대한 열처리의 경우 짧은 시간에도 색상의 변화가 가시적으로 확인되었다. 이에 반하여 단세포물의 경우에는 상당시간의 열처리에도 색상의 뚜렷한 변화가 없었다. 이와 함께 기계적 마쇄의 경우에는 autoclave에서 5분 처리 후에 내용물의 열변성의 결과로 유수분리와 같은 두개의 층으로 극명한 분리가 일어났으나, 단세포물은 동일 처리 하에서도

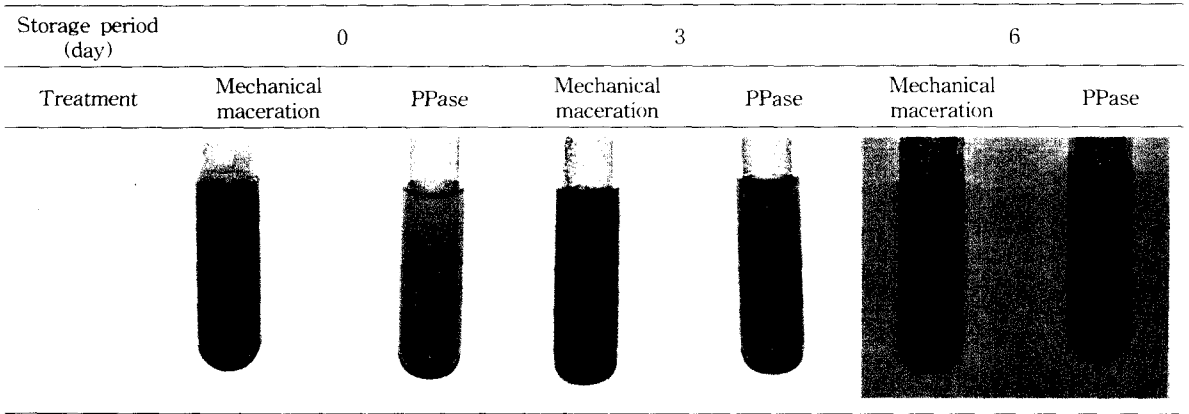


Fig. 4. Color changes of kiwifruit suspensions treated with PPase and mechanical maceration stored at 4°C.

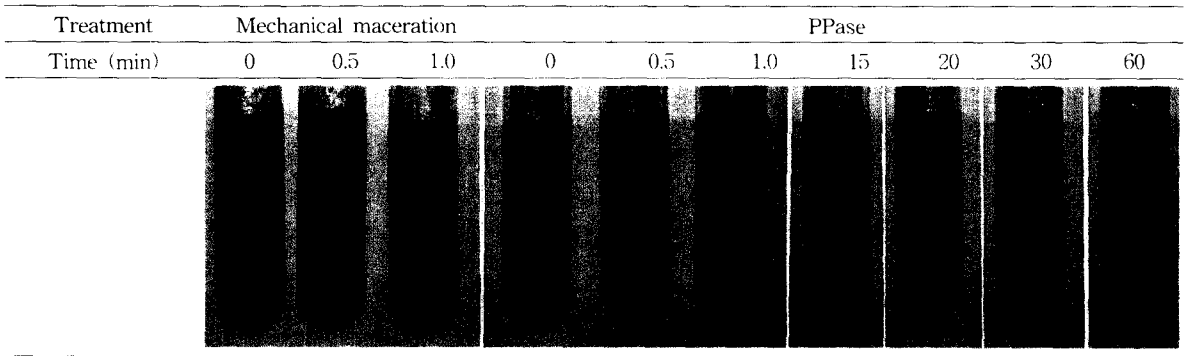


Fig. 5. Color changes after boiling kiwifruit suspensions treated with PPase and mechanical maceration.

열에 의한 가시적인 변화가 거의 없었다(결과 미제시). 이상의 결과는 PPase에 의해 생성된 단세포물이 가열과 같은 식품의 산업적 가공에 별다른 영향을 받지 않을 뿐 아니라 가공 중에 발생하는 내용물의 품질변화 및 층분리를 방지할 수 있어 식물성 식품소재의 가공 및 응용에 유리함을 의미한다.

요 약

가공식품의 개발에 있어서 식품의 맛과 더불어 저장성, 열안정성 및 색조유지는 소비자의 기호도에 중요한 영향을 미친다. *B. subtilis* EK11 유래의 PPase는 식물조직 중엽부의 주성분인 불용성 protopectin을 분해하여 단세포화하는 효소이다. PPase를 참다래에 작용시켜 참다래 고유의 세포 속에 함유되어 있는 세포내 성분들의 파손없이 단세포를 유리하였다. 참다래 조직으로부터 제조된 단세포화물의 착즙 후 관찰된 회수율과 잔사율은 각각 82%와 18%로써, 기계적 마쇄물에서의 60%와 40%에 비하여 높은 회수율과 낮은 잔사율을 나타내었다. 총당, 환원당, sucrose, 조단백질, 조지방 및 조섬유에 대해 함량 변화는 큰 차이가 없었으며, 이는 단세포 처리에 의하여

이들 성분이 안전하게 유지됨을 알 수 있었다. PPase로 처리시 가장 불안정한 비타민 C가 1일 경과 후에도 95% 이상이 보존되는 것으로 보아 단세포에 의한 일반적인 구성성분이 안정하게 유지 보호됨을 알 수 있다. PPase로 처리된 참다래 단세포물을 4°C에서 6일간 저장하며 색조를 관찰한 결과, 기계적 마쇄물에서는 변색이 일어났으나 단세포화물에서는 뚜렷한 색조의 차이가 없었다. 또한 PPase로 처리한 참다래 단세포물을 100°C에서 60분간 열처리한 후 관찰한 결과, 기계적 마쇄물에서는 짧은 처리에도 극심한 변화를 보였으나 단세포화물에서는 변화가 보이지 않아 높은 열안정성을 나타내었다. 따라서 PPase는 참다래의 단세포화물에 응용 가능하여 참다래 음료제조 및 원료 보존에 유용하게 이용할 수 있을 것으로 여겨진다. 또한 PPase를 이용한 참다래의 효율성 제고와 고부가가치의 기능성 식품제조에 이용될 수 있음을 의미한다.

문 헌

1. 농림수산부 : 농림수산주요통계 (1995)
2. Beutel, J.A., Winter, F.H., Manners, S.C. and Miller, M. W. : A new crop for california kiwi fruit. *Calif. Agric.*, **30**, 5-7 (1976)

3. Ferguson, I.B. : Movement of mineral nutrient into the developing fruit of the kiwi-fruit (*Actinidia chinensis* planch). *N.Z.J. Agricultural Research*, **23**, 349-353 (1980)
4. Lerici, C.R., Dinnavaia, G., Rosa, M.D. and Bartducci, L. : Osmotic dehydration of fruit: Influence of osmotic agents on drying behavior and product quality. *J. Food Sci.*, **50**, 1217-1219 (1985)
5. Kim, M.H. : Mass transfer and optimum processing condition for osmotic concentration of potatoes prior to air dehydration (in Korea). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **22**, 497-502 (1990)
6. Han, E.S. : *Fruits storage and processing technology in Korea*. Agricultural Cooperative Development Institute (1993)
7. Sakai, T. and Okushima, M. : Purification and crystallization of a protopectin solubilizing enzyme from *Trichosporon penicillatum*. *Agric. Biol. Chem.*, **46**, 667-676 (1982)
8. Sakai, T. and Yoshitake, S. : Purification and some properties of a protopectin-solubilizing enzyme from *Galactomyces reessii* strain L. *Agric. Biol. Chem.*, **48**, 1941-1950 (1984)
9. Sakai, T., Okushima, M. and Yoshitake, S. : Purification, crystallization and some properties of endopolygalacturonase from *Kluyveromyces fragilis*. *Agric. Biol. Chem.*, **48**, 1951-1961 (1984)
10. Sakai, T. and Sakamoto, T. : Purification and some properties of a protopectin-solubilizing enzyme that has potent activity on sugar beet protopectin. *Agric. Biol. Chem.*, **54**, 879-889 (1990)
11. Miyazaki, H. and Terata, I. : Treatment of waste rind of citrus fruits and extraction of the components. *Shokuhin Kogyo*, **17**, 81-87 (1974)
12. Sakai, T. and Okushima, M. : Microbial production of pectin from citrus peel. *Appl. Environ. Microbiol.*, **39**, 908-912 (1980)
13. Sakai, T., Hours, R. and Nakamura, T. : Enzymatic maceration of vegetables with protopectinases. *J. Food Sci.*, **60**, 468-472 (1995)
14. Mitsui, T., Hashimoto, N., Deguchi, K., Hirano, M. and Igau, I. : Isolation of plant mesophyll protoplasts with an endopolygalacturonase from *Trichosporon penicillatum*. *Plant Tissue Cult. Lett.*, **7**, 14-18 (1990)
15. Lee, S.C., Yuk, H.G. and Hwang, Y.I. : Recovery yields of protopectinase depending on treatments of organic solvents. *J. Korean Agric. Chem. Biotechnol.*, **40**, 107-111 (1997)
16. Lee, S.C., Ko, B.S., Lee, D.H. and Hwang, Y.I. : Cell separation of vegetable tissues by protopectinase. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **26**, 430-435 (1997)
17. Lee, D.H., Park, E.K., Mun, C.H., Ha, J.U., Lee, S.C. and Hwang, Y.I. : Effect of medium composition on protopectinase production from *Bacillus subtilis* EK11. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **27**, 378-384 (1999)
18. AOAC : *Official methods of analysis*. 16th ed., Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA, chapter 44, p.1 - chapter 45, p.18 (1995)
19. Paull, R.E., Deputy, J. and Chen, N.J. : Changes in organic acids, sugars, headspace volatiles during fruit ripening of soursop (*Annona muricata* L.). *J. Am. Soc. Hort. Sci.*, **108**, 931-934 (1983)
20. Gross, J. : Pigment changes in the pericarp of the chinese gooseberry of kiwi fruit (*Actinidia chinensis*) cv. Bruno during ripening. *Gartenbauwissenschaft*, **47**, 162-167 (1982)
21. Matsumoto, S., Obara, T. and Luh, B.S. : Changes in chemical constituents of kiwifruit during post-harvest ripening. *J. Food Sci.*, **48**, 607-611 (1983)
22. Cano, M.P. : HPLC separation of chlorophyll and carotenoid pigments of four kiwifruit cultivars. *J. Agric. Food Chem.*, **39**, 1786-1791 (1991)
23. Cano, M.P. and Marin, M.A. : Pigment composition and color of frozen and canned kiwifruit slices. *J. Agric. Food Chem.*, **40**, 2141-2146 (1992)

(2000년 4월 8일 접수)