

Bacillus subtilis EK11 유래 Protopectinase를 처리한 단감의 특성

이대희 · 이승철 · 황용일[†]

경남대학교 생명과학부

Characteristics of Sweet Persimmon Treated with Protopectinase from *Bacillus subtilis* EK11

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 in color, which greatly affects the tastes. 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, persimmon was enzymatically macerated to separate cells to primary cell wall without damage. Recovery rates of persimmon treated with PPase and mechanical maceration were 95% and 85%, respectively. Total and reducing sugars, crude protein and fat in the enzymatic maceration were well preserved as in the mechanical maceration. Importantly, over 50% of vitamin C, which is the most unstable component during the mechanical maceration, remained with an intact form for one day after the enzymatic treatment. When the suspensions of persimmon macerated with both treatments were stored at 4°C for 9 days, the mechanically macerated persimmon suspension was decolorized, whereas decolorization was not found in the enzymatically macerated persimmon suspension. Moreover, the mechanically macerated persimmon was greatly deteriorated after heat treatment at 100°C for 60 min, whereas cells of the enzymatically separated persimmon suspension appeared to be stable, indicating increased thermal stability. Thus, the PPase treatment of persimmon could be a better choice for preparation of highly valuable and functional processed food as well as for increase in preservation period.

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

서 론

감나무(*Diospyris kaka*, Thun)는 한국, 중국, 일본이 원산지로서 쌍떡잎식물 감나무목 감나무과의 낙엽활엽 교목이다. (1). 국내에서는 상고시대부터 재배되어오고 있는 과실수이며, 특히 단감은 남부지방에서 대량생산된다. 단감에는 여러 가지 생리효능이 있는 것으로 알려져 있으며 전통적으로 애용되는 과일이며 감미가 풍부한 알칼리성 식품으로 장의 수축과 분비액의 촉진 및 기침을 멈추게 하는 효능이 있다고 알려져 있다(2-4).

이러한 영양학적 특성에도 불구하고 다른 과일에 비하여 저장성 등의 문제로 그 이용성이 제한되어왔다. 감을 이용한 가공식품으로 감식초(5-8), 건시(9-11), 감술(12,13), 감잼(14, 15), 감장아찌(16-18), 감통조림(1), 감주스(1,19,20) 등에 이용되고 있다. 그러나 수요가 많지 않아서 농가 소득을 증가시킬 만한 수준은 아니다.

과일과 채소를 식품재료로 이용한 가공에서 가장 문제가

되는 것은 열처리 및 기계적 마쇄로 인한 영양 및 생리활성 성분들의 파괴, 색이나 향기와 같은 기호성분의 변화, 부유 물질의 생성 등이다.

단감은 다른 과일과는 달리 저장, 유통 중 세포벽 분해효소에 의한 연화현상으로 물성변화 및 품질저하가 초래되어 막대한 경제적 손실이 발생할 뿐 아니라 소비자의 기호성에 많은 영향을 미친다. 더욱이 수확 후 단감은 품질과 저장성이 밀접하게 관련되어 있어 '연화현상'이라는 생리적 변화가 고려되지 않은 저장방법은 많은 문제점이 있다. 이러한 문제를 개선할 수 있는 방법 중의 하나가 효소적 처리에 의한 단감의 단세포화이다.

단세포화 효소인 protopectinase(PPase)는 식물세포에 있어 세포와 세포 간의 중엽부(middle lamella)의 주성분을 이루며 pectin의 모체가 되는 불용성 protopectin을 제한 가수분해하여 수용성 pectin을 생산하는 효소로서 그 작용 기작과 생산 미생물들이 보고되고 있으며(21-24), Fig. 1에서와 같이 기계적 파쇄인 경우에는 조직의 파괴가 일어나지만

[†]Corresponding author. E-mail: yihwang@kyungnam.ac.kr
Phone: 82-55-249-2685. Fax: 82-55-249-2995

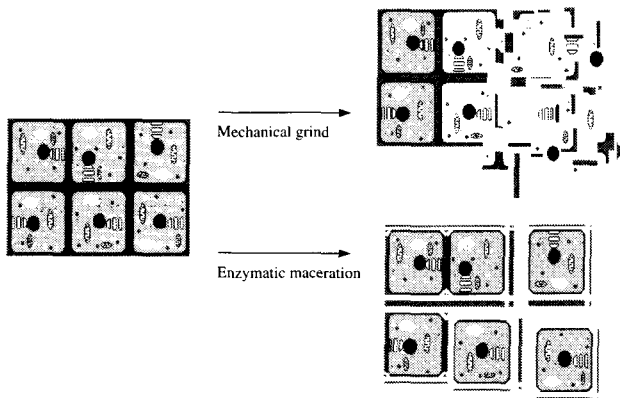


Fig. 1. Schematic illustration of enzymatic or mechanical maceration.

PPase에 의한 효소적 처리의 경우에는 식물 조직을 구성하는 세포가 각각의 세포로 유리되어진다. *Bacillus subtilis* 유래 PPase(pectate lyase [EC 4.2.2.2])의 분자량은 30,000 Da 정도이며 반응 최적온도와 pH는 각각 40°C와 8.0이다. PPase는 최근 식품, 의약산업에서의 pectin 생산(25,26), 식물성 식품 소재를 위한 단세포화(27), 식물세포의 protoplast 생산(28) 등에 응용성을 가진다고 보고되었으며, 그 중요성은 점차 증가하고 있다.

본 연구진들은 이미 PPase를 생산하는 균주를 다수 보유하고 있으며 이 중에서 *Bacillus* 균주의 배양액으로부터 유기용매를 이용하여 대량으로 PPase를 추출하여 식물조직의 단세포화를 시도하였다(29,30). 본 연구에서는 *B. subtilis* EK11 유래의 PPase를 이용한 단세포화를 통하여 단감의 가공시 영양 및 생리활성 성분의 파괴, 기호성분의 변화, 저장성 등의 문제를 동시에 개선시킬 수 있는 가능성을 조사하여 이 결과들을 활용한 단감의 이용성 증대에 대한 전망을 보고하고자 한다.

재료 및 방법

시약 및 재료

본 연구에서 사용한 한국산 단감은 2002년도 경상남도 진영지방에서 재배된 만생종 부유 품종을 사용하였다. 미생물의 증식을 위한 배지는 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(31)로 균주의 보존은 LB(1% tryptone, 1% NaCl, 0.5% yeast extract) 사면배지에 접종하여 생육시켰으며, PPase생산을 위한 효소 생산용 배지(31)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(30)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 배양 상정액을 여과하여 사용하였다. 배양 상정액에 -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×g)하여 침전물은 제거하고 그 상정액에 최종비율이 1:1(v/v)의 비율로 다시 ethanol을 처리하여 침전시켰다. 위와 동일한 방법으로 -20°C에서 12시간 방치하고 20분간 원심분리하여 침전물을 얻었다. 침전물은 동결건조기(FD5512, ILSIN Engineering Co., Korea)에서 건조하여 PPase 건조분말을 회수하여 단감 조직의 단세포화에 이용하였다.

식물조직의 단세포화물 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 단감 조각(10×10×10 mm³)을 넣은 후, 1:1(v/v)의 비율이 되게 하여 shaking incubator(100 rpm, 37°C)에서 8 hr 동안 처리 후 40 mesh에 걸렀을 때 걸러진 것을 단세포화물로 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

단감 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

단세포물과 기계적 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 백 값을 표시하였다.

비타민의 정량 및 일반성분의 분석

단세포물 중의 비타민 C의 정량은 AOAC법(32)에 따라 하였다. 단감 단세포물을 메타인산을 가하여 수회에 걸쳐 추출하여 정량하였다. 조지방, 조섬유, 조단백, 당류도 AOAC법(32)으로 분석하였다.

결과 및 고찰

PPase를 이용한 단감 단세포화

PPase를 생산하는 *B. subtilis* EK11의 배양액으로부터 PPase 건조분말을 회수하여 단감 조직에 처리하여 현미경으로 관찰하였다. Fig. 2에서와 같이 PPase로 처리한 경우에는 효소작용에 의해 조직 세포가 유리되어 각각 단세포화되는 것을 나타내고 있다. 이는 PPase가 식물의 중엽부에 존재하는 protopectin을 가수분해하여 세포와 세포를 유리하는 것을 보여주는 것으로 PPase에 의한 단감의 단세포화 가능성을 보여주고 있다. 그러나 대조군으로서 기계적으로 마쇄한 경우에는 단세포화와 비교할 때 세포파괴에 의하여 조직을 구성하는 여러 가지 세포내부 물질이 파쇄 용출되어 성분이 불규칙적이며 정상적인 세포가 확인되지 않았다.

단감의 기계 및 효소적처리에 의한 회수율

단감의 PPase 처리에 의한 단세포화 정도를 조사하고자 각각 PPase처리와 기계적 마쇄처리를 거친 후, 40 mesh에서 걸러 잔사물(찌꺼기)의 양 및 회수율을 조사하였다(Table 1). PPase로 처리하였을 경우에는 회수율이 95%, 잔사물이 5%이었으나, 기계적 마쇄를 행한 경우에는 85%의 회수율과 15%의 잔사물이 발생하였다. 상기의 결과에서 PPase에 의한 단세포화 가공시 기계적 처리에 비하여 약 10% 이상의 회수율

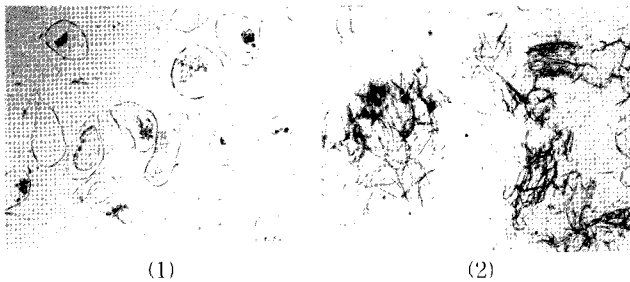


Fig. 2. Microphotographs of persimmon suspensions. (1): Treated with PPase (×50). (2): Mechanically macerated with homogenizer (×50).

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

Treatment ¹⁾	Recovery (%)	Waste (%)
PPase	95	5
Mechanical maceration	85	15

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

Table 2. Analysis of persimmon components treated with PPase or mechanical maceration

Treatment ¹⁾	Components (%)					
	Total sugar	Reducing sugar	Sucrose	Crude protein	Crude fat	Crude fiber
PPase	17.9	3.4	1.1	0.58	0.13	0.09
Mechanical maceration	13.8	3.6	1.2	0.62	0.11	0.11

¹⁾Filterates of persimmon treated with PPase or mechanical maceration were recovered by 40 mesh sieve.

증가를 보여 PPase 처리가 단감 과즙 회수에 있어 수율 향상을 가져올 수 있음을 알 수 있다. 또한 폐기되는 잔사물의 경우에서도 효소처리의 경우 5%로 기계적 마쇄의 15%에 비해 작출 후의 폐기물량이 3배 이상 감소되었음을 보였다. 특히 잔사물 5%에는 PPase에 분해가 어려운 단감의 과일이 주구성성분인 점을 감안하면 실제 회수율은 95% 이상임을 보여준다. 과일과 채소류에 대한 가공 중, 과즙 제조공정에서는 작출 후 잔사물이 부산물로 발생하는 폐기물 처리가 큰 문제인데 PPase에 의한 효소처리는 작출물의 향상 및 환경 오염물질의 감소라는 측면에서 장점으로 들 수 있다.

단감 단세포물의 이화학적 성분 변화

단감의 단세포화에 따른 내부성분의 안정성을 조사하기 위하여 기계적 마쇄 처리에 의한 회수물과 상호 비교하여 총당, 환원당, 자당, 조단백질, 조지방 및 조섬유에 대해 성분변화를 조사하였다. Table 2에서는 단세포물과 마쇄물간의 이화학적 성분변화를 비교한 결과로 총당, 환원당, 자당의 경우 처리구별 차이는 없었으나 전체 총당의 함량은 회수물의 경우 단세포화물이 17.9%로 마쇄물의 13.8%보다 다소 높았다. 환원당과 자당의 함량은 단세포화물과 마쇄물간에 큰 차이는 없었다. 과일의 단맛에 영향을 주는 요소는 각 유리당의 함량과 유기산의 비율이라고 Paul 등(33)은 보고하고 있다. 특히, 자당의 함량은 단맛의 증가와 큰 상관관계를 갖는다고 볼 때 PPase처리나 기계적 마쇄처리나 단맛은 비슷하게 유지되었다.

이 밖에 조단백과 조섬유의 함량은 기계적 처리구가 약간 높았으며, 조지방은 효소적 처리에 의하여 약간 증가 추세를 보였다. 하지만 이들 성분의 전체적인 함량변화에는 큰 차이가 없었다. 이는 단세포 처리에 의하여 이들 성분이 안전하게 유지됨을 알 수 있었다.

단감 단세포물의 비타민 C 함량 변화

식물조직을 기계적 처리나 PPase 처리에 의하여 세포벽이나 세포막을 파괴하였을 경우 세포내의 구성성분이 용출되며 이로 인하여 구성성분의 상당부분은 열이나 광선, 산, 알칼리에 의하여 변성된다. 그러나 단세포화물의 경우에는 세포벽이 세포내의 구성성분을 보호하여 안정화시킬 수 있다. 단감을 단세포화 하였을 경우 성분변화를 관찰하기 위하여 가장 불안정하며 일반성분에 대한 변화의 기준으로 측정되는 비타민 C를 대상으로 조사하였다. Fig. 3의 결과와 같이 단세포화 효소를 이용하여 얻어진 단세포물은 4°C에서 1일 경과 후, 비타민 C의 함량이 50% 이상 보존되는 것으로 보아

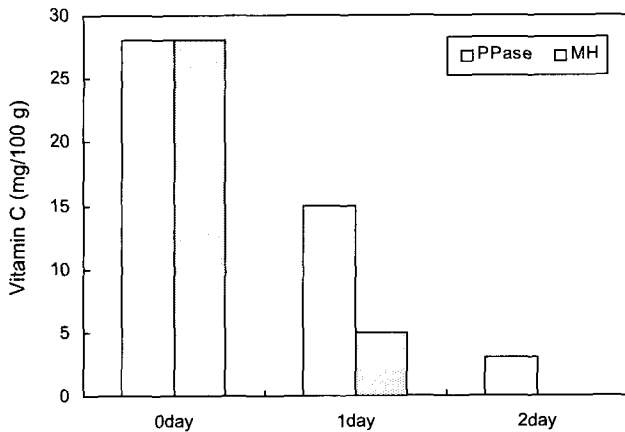


Fig. 3. Change of vitamin C in persimmon suspensions treated with PPase or mechanical maceration stored at 4°C.
 PPase: Recovery of PPase-treated persimmon suspension.
 MH: Recovery of mechanically homogenized persimmon suspension.

단세포에 의한 다른 성분의 안정성에 긍정적인 면을 보였다. 동일시간 경과 후 동일조건에서 기계적 처리에 의한 마쇄물의

비타민 C는 18%만의 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 알 수 있다.

단감 단세포물의 색조변화

단감은 초기에는 선명한 주황색의 과육을 갖는 과일로 숙성이 진행됨에 따라 과육의 흑변이 진행된다(16,17). 원료 채소와 과일의 종류에 따라 가공시 과채류 과즙의 색깔과 부유물질의 성상은 중요한 기호 특성이다. PPase 처리에 의한 단감의 단세포화물에서 색소 안정성을 검토하기 위하여, 단세포화물과 기계적 마쇄물의 변화를 저장기간에 따라 일어나는 변색정도를 관찰하였다(Fig. 4). 각각의 단세포화물과 마쇄물을 4°C에서 9일 동안 보관하며 색조의 변화를 관찰한 결과, 마쇄물의 경우에는 3일 이후부터 변화가 관찰되었으며 9일 경에는 변색 정도가 뚜렷하며 분리현상이 일어났으나 PPase를 처리한 단세포화물의 경우에는 시간이 경과하여도 변색 정도가 외관상으로는 미미하였다. 이는 Fig. 2에서와 같이 단

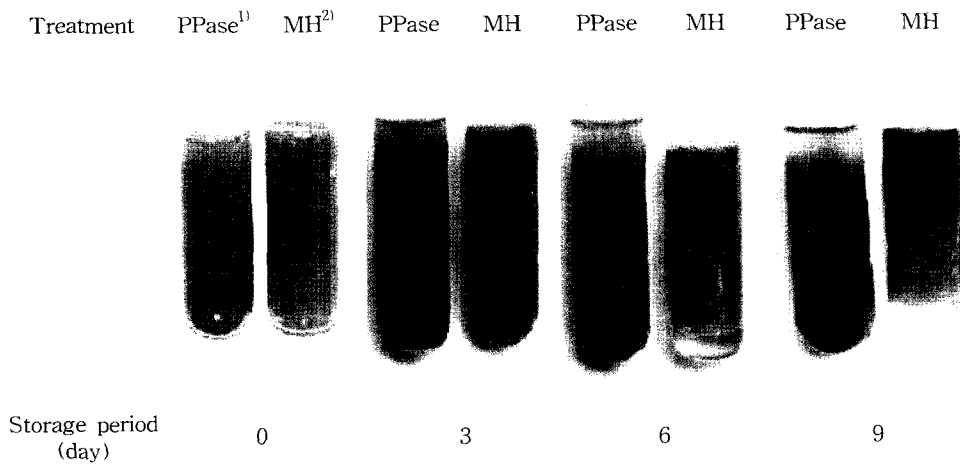


Fig. 4. Color changes of persimmon suspensions treated with PPase or mechanical maceration stored at 4°C.
¹⁾PPase: Recovery of PPase-treated persimmon suspension.
²⁾MH: Recovery of mechanically homogenized persimmon suspension.

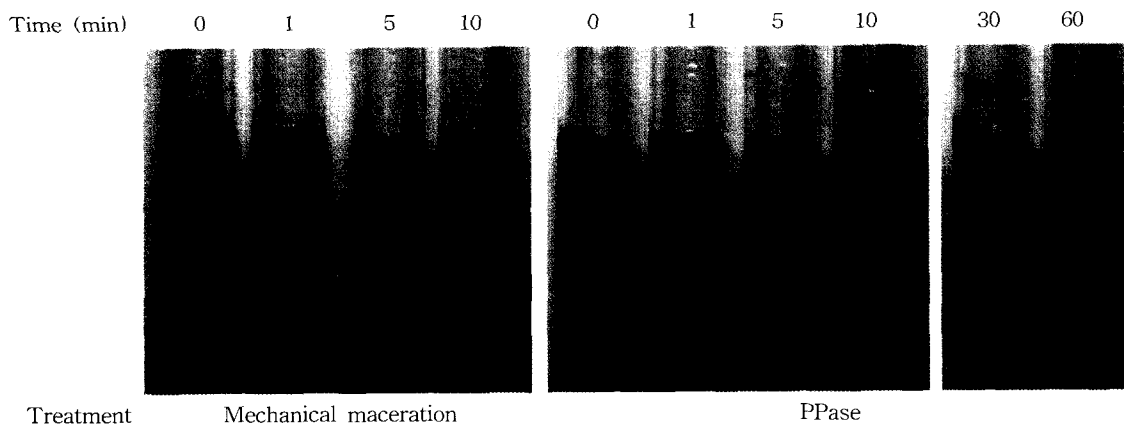


Fig. 5. Color change of persimmon suspensions treated with PPase or mechanical maceration after boiling.

감 세포내의 색소체가 PPase 처리의 경우에는 두터운 세포벽과 세포막에 쌓여 보호되나, 기계적 마쇄에서는 세포의 파괴에 의하여 세포외 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, 식물조직의 가공 시에 PPase의 처리는 일반적 기계마쇄에 의한 공정보다 세포 내에 존재하는 일반 구성성분 및 영양물질이 세포 내에서 안정한 상태로 유지됨을 의미한다.

단감 단세포화물의 열안정성 비교

열처리공정은 식물유래 식품의 가공에서 살균을 목적으로 하는 필수조작이다. PPase 처리에 의한 단세포화물의 열안정성을 조사하기 위해 일반적인 살균 처리조건인 100°C에서 60분까지 일정시간 간격으로 가열한 후, PPase에 의한 단감의 단세포화물과 기계적 마쇄물의 변화를 관찰하였다. Fig. 5의 결과와 같이 기계적 마쇄물에 대한 열처리의 경우 짧은 시간에도 용액 중의 색상의 변화가 가시적으로 확인되었다. 이에 반하여 단세포화물의 경우에는 60분 정도의 열처리에도 색상의 뚜렷한 변화가 없었다. 이와 함께 기계적 마쇄의 경우에는 autoclave에서 5분 처리 후에 내용물의 열변성의 결과로 유수분리와 같은 두개의 층으로 극명한 분리가 일어났으나, 단세포화물은 동일 처리 하에서도 열에 의한 가시적인 변화가 거의 없었다(결과 미제시). 이상의 결과는 PPase에 의해 생성된 단세포화물이 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 단감에 작용시켜 단감 고유의 세포 속에 함유되어 있는 세포내 성분들의 파손 없이 단세포를 유리하였다. PPase처리된 단감 단세포화물의 착즙 후 회수율과 잔사율은 각각 95%와 5%로서, 기계적 마쇄물에서의 85%와 15%에 비하여 높은 회수율과 낮은 잔사율을 나타내었다. 총당, 환원당, 자당, 조단백질, 조지방 및 조섬유의 함량변화는 큰 차이가 없었으며, 이는 단세포 처리에 의하여 이들 성분이 안정하게 유지됨을 알 수 있었다. 식품중 열 또는 빛에 가장 불안정한 비타민 C의 경우 단감 단세포화물은 1일 경과 후에도 50% 이상이 보존되는 것으로 보아 단세포에 의한 일반적인 구성성분이 안정하게 유지, 보호됨을 알 수 있다. PPase로 처리된

단감 단세포화물을 4°C에서 9일간 저장하며 색조를 관찰한 결과, 단세포화물에서는 뚜렷한 색조의 차이가 없었고 기계적 마쇄물에서는 변색이 일어났다. 또한 단감 단세포화물을 100°C에서 60분간 열처리한 후 관찰한 결과, 기계적 마쇄물의 경우 짧은 처리에도 변화를 보였으나 단세포화물에서는 그다지 큰 변화가 없었으며 이는 효소적 단세포화물의 높은 열안정성을 의미한다. PPase를 이용한 단감의 단세포화는 음료제조 및 원료보존에 유용하게 응용가능하며, 나아가 단감 단세포화물의 폭넓은 식품소재화 가능성과 고부가가치 가능성 식품제조에 이용될 수 있음을 의미한다.

감사의 글

본 연구는 경남대학교 2002학년도 학술논문게재비 지원으로 이루어졌으며 이에 감사 드립니다.

문 헌

1. Kim JG, Choi SH, Kim WJ Oh HI. 1995. Physical and sensory characteristics of persimmon jam prepared with enzyme treated persimmon juice. *Korean J Food Sci* 15: 50-54.
2. Moon SH, Park KY. 1995. Antimutagenic effects of boiled water extract and tannin from persimmon leaves. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 24: 880-886.
3. Shinji F, Hiroshi H. 1979. Hypotensive principles of *Diospyros kaki* leaves. *Chem Pharm Bull* 27: 2865-2869.
4. Yu TJ. 1976. *Food cart*. PakMyoung Publishing Co, Seoul. p 129.
5. Hong JH, Lee GM, Hur SH. 1996. Production of vinegar using deteriorated deastringent persimmons during low temperature storage. *J Korean Soc Food & Nutr* 25: 123-128.
6. Jeong ST, Kim JG, Chang HS, Kim YB, Choi JU. 1996. Optimum condition of acetic acid fermentation for persimmon vinegar preparation and quality evaluation of persimmon vinegar. *Korean J Postharvest Sci Technol* 2: 171-178.
7. Jeong YJ, Lee GD, Kim KS. 1998. Optimization for the fermentation condition of persimmon vinegar using response surface methodology. *Korean J Food Sci Technol* 30: 1203-1208.
8. Kim JH, Ahn KH, Ro CW, Seo KK, Shin WK. 1998. Improvement of fermentation process of fruit vinegar using sweet persimmon. *RDA J Horti Sci* 40: 24-28.
9. Moon KD, Sohn TH. 1988. The changes of soluble sugar components and texture during the processing of dried persimmon. *Korean J Dietary Culture* 3: 385-390.
10. Lee BO, Moon KD, Sohn TH. 1990. Purification and characterization of invertase in astringent persimmon during sun drying. *Korean J Dietary Culture* 5: 269-274.
11. Sohn TH, Moon KD, Lee NH. 1991. Textual properties and cell wall components of dried persimmon according to varieties. *Korean J Dietary Culture* 6: 229-235.
12. Ann YG, Pyun JY, Kim SK, Shin CS. 1999. Studies on persimmon wine. *Korean J Food & Nutr* 12: 455-461.
13. Woo KL, Lee SH. 1994. A study on wine-making with dried persimmon produced in Korea. *Korean J Food Sci Technol* 26: 204-212.
14. Park WK, Yoo YH, Hyun JS. 1975. Study on the manufacture of jam with Korean persimmon. *J Korean Soc Food Nutr*

- 4: 25-29.
15. Yang HS, Lee YC. 2000. Changes in physico-chemical properties of soft persimmon and puree during frozen storage. *Korean J Food Sci Technol* 32: 335-340.
 16. Chung DO, Chung HJ. 1995. Associated microorganisms and chemical composition of persimmon pickles. *Korean J Dietary Culture* 10: 133-137.
 17. Kim HY, Chung HJ. 1995. Changes of physicochemical properties during the preparation of persimmon pickles and its optimal preparation conditions. *Korean J Food Sci Technol* 27: 679-702.
 18. Song BH, Kim DY. 1983. Studies on storage of persimmons in salt solution. *J Korean Agri Chem Soc* 26: 169-176.
 19. Chun YK, Choi HS, Cha BS. 1997. Effect on enzymatic hydrolysis on the physicochemical properties of persimmon juice. *Korean J Food Sci Technol* 29: 198-203.
 20. Kang HA, Chang KS. 1997. Concentration of persimmon juice by revers osmosis system. *Korean J Food Sci Technol* 29: 279-283.
 21. Sakai T, Okushima M. 1982. Purification and crystallization of a protopectin solubilizing enzyme from *Trichosporon penicillatum*. *Agric Biol Chem* 46: 667-676.
 22. Sakai T, Sakamoto T. 1990. Purification and some properties of a protopectin-solubilizing enzyme that has potent activity on sugar beet protopectin. *Agric Biol Chem* 54: 879-889.
 23. Sakai T, Yoshitake S. 1984. Purification and some properties of a protopectin-solubilizing enzyme from *Galactomyces reessii* strain L. *Agric Biol Chem* 48: 1941-1950.
 24. Sakai T, Okushima M, Yoshitake S. 1984. Purification, crystallization and some properties of endopolygalacturonase from *Kluyveromyces fragilis*. *Agric Biol Chem* 48: 1951-1961.
 25. Miyazaki H, Terata I. 1974. Treatment of waste rind of citrus fruits and extraction of the components. *Shokuhin Kogyo* 17: 81-87.
 26. Sakai T, Okushima M. 1980. Microbial production of pectin from citrus peel. *Appl Environ Microbiol* 39: 908-912.
 27. Sakai T, Hours R, Nakamura T. 1995. Enzymatic maceration of vegetables with protopectinases. *J Food Sci* 60: 468-472.
 28. Mitsui T, Hashimoto N, Deguchi K, Hirano M, Igaue I. 1990. Isolation of plant mesophyll protoplasts with an endopolygalacturonase from *Trichosporon penicillatum*. *Plant Tissue Cult Lett* 7: 14-18.
 29. Lee SC, Ko BS, Lee DH, Hwang YI. 1997. Cell separation of vegetable tissues by protopectinase. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26: 430-435.
 30. Lee SC, Yuk HG, Hwang YI. 1997. Recovery yields of protopectinase depending on treatments of organic solvents. *Agric Chem Biotechnol* 40: 107-111.
 31. Lee DH, Park EK, Mun CH, Ha JU, Lee SC, Hwang YI. 1999. Effect of medium composition on protopectinase production from *Bacillus subtilis* EK11. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol* 27: 378-384.
 32. AOAC. 1995. *Official methods of analysis*. 16th ed. The association of official analytical chemists, Washington DC.
 33. Paull RE, Deputy J, Chen NJ. 1983. Changes in organic acids, sugars, headspace volatiles during fruit ripening of soursop (*Annona muricata* L.). *L Am Soc Hort Sci* 108: 931-934.

(2002년 10월 16일 접수; 2003년 1월 6일 채택)