

## Protopectinase를 이용한 포도 단세포화물의 품질 특성

김 동 호<sup>¶</sup>

서원대학교 산학협력단

## Quality Characteristics of Grape Suspensions Using Protopectinase

Dong-Ho Kim

*Institute of Industry-Academy Collaboration, Seowon University*

### Abstract

This study was conducted to investigate the changes of macerating properties from grape suspensions for which both were treated with protopectinase(PPase) and mechanical maceration stored at 4°C for 28 days. Changes of macerating properties such as pH, total acidity, color, total polyphenol and antioxidant activity of suspensions after enzymatic hydrolysis were determined before and after heating, and microscopic observation made on suspensions containing single cells. With the PPase, grapes were enzymatically macerated to separate cells to primary cell wall without damage. Also, the changes of macerating properties in grape suspension treated with PPase and after heat treatment at 80°C for 30 min were more stable than those of mechanical maceration, indicating the thermal stability. Thus, the PPase treatment for grapes could be a better choice for preparing highly valuable and functional processed food as well as for prolonging preservation periods.

**Key words:** grape, protopectinase, enzymatic hydrolysis, mechanical maceration, suspension, thermal stability

### I. 서 론

식품은 여러 가지 가공목적에 따라 마쇄(size reduction) 공정이 필요하며, 현재 주로 사용되는 과채류 마쇄기법은 기계적 마쇄 방법이다. 기계적으로 마쇄, 착즙할 경우 식물체의 조직을 구성하는 개개의 세포를 분리하는 것은 불가능하기 때문에 마쇄물은 작은 입자의 유조직 파편, 덩어리진 세포로 구성되므로 원료 내 존재하는 영양소의 이행률이 낮을 뿐 아니라 이들 착즙액은 수율이 낮고, 열에 의해 변성되기 쉽고 안정성이 떨어지며, 농산물 원료에 따라서는 세포벽이나 세

포막이 파괴되므로 이로 인해 나쁜 냄새를 발현하고, 착즙액의 색상이 불안정한 단점을 지니게 된다(Park YK · Kang YH 2004a). 따라서 이러한 문제점들을 해결하기 위해 연구가 진행되어 오고 있는 것이 효소처리를 통한 식품조직의 단세포화이며, 이 방법은 식품의 조직을 마쇄할 때 세포와 세포를 연결하는 부위를 효소적으로 분해시켜 단세포로 만들 수 있는 방법이다. 아울러 이와 같은 기술이 개발되면 기계적 마쇄시 발생하는 여러 가지 품질손실을 효과적으로 방지할 수 있을 것으로 보여 진다(Baek KH et al. 2006a). 일반적으로 식물세포벽의 주성분인 중층(middle lamella)

¶ : 교신저자, 017-246-2390, dh3034@hanmail.net, 충북 청주시 흥덕구 무심서로 377-3(모충동)

과 1차 세포벽은 protopectin으로 구성되어 있다. Protopectin은 식물조직에서 발견된 불용성의 펙틴질로 특수한 분해가 있어야만 가용화되고, 식물세포간 유착의 기능을 가진다(Guillon F et al. 1989 ; Renard CM et al. 1990). Protopectin을 가용화 할 수 있는 효소를 식물세포분리효소(Protopectinase, 이하 PPase라 함)라 하는데, 이 효소는 식물조직내의 세포간극 물질에 작용하여 가용성 펙틴을 유리하며(Nakamura T et al. 1995 ; Toyama V 1965 ; Toyama N · Owatashi H 1966) 식물의 세포간 물질을 선택적으로 분해시켜 각각의 단위 세포가 갖고 있는 식물의 천연성분들을 파괴시키지 않고 유지시킬 수 있는 식물 단세포의 생성에도 이용되는 등 식품산업, 화장품산업 등에서 그 응용 가치가 증가되고 있는 효소이다(Gomez-Ruiz L et al. 1988 ; Call HP et al. 1985). 기존의 PPase에 대한 연구 결과들을 살펴보면 이 효소를 이용하면 식물성 식품소재의 가공공정에 이용할 수 있으며, 특히 주스 가공 및 푸레와 같은 다량의 수용성 고형분 함유 식품제조에 있어 수율 향상과 더불어 가공공정의 효율성을 가져올 수 있다고 보고되고 있다(Bhat MK 2000). 또한 ethanol처리를 통한 효율적인 PPase의 정제회수(Lee SC et al. 1997a), PPase 회수를 위한 최적 배지조성으로 활성도상승에 대한 연구가 보고(Lee SC · Hwang YI 1999)되는 등 그 중요성과 산업적 응용을 위한 활발한 연구들이 진행 중이며, 중요성 또한 더욱 증가하고 있다. 그리고 직접 단세포화물을 제조해 실험동물에게 투여한 결과 식이섬유 흡수율의 증가, 체중의 유의적인 증가 등의 영향을 미치는 것으로 나타났다(Park YK · Kang YH 2004b).

그러나 이들 대부분의 연구들은 PPase를 이용한 상업적 제품 개발에 관한 보고는 거의 없는 실정이므로 본 연구에서는 과일주스의 대표 과채류인 포도를 효소적, 기계적 방법으로 가공 처리하여 열처리 후 저장중의 품질변화를 상호 비교분석하여, 과채류의 효소 처리 가능성에 대한 기초 자료를 제시하고자 하였다.

## II. 실험재료 및 방법

### 1. 실험재료

본 실험에 사용한 포도는 2010년 9월에 충북영동지방에서 수확한 *Campbell Early* 품종을 사용하였다. 이들의 단세포화를 위해 사용한 효소는 일본 IGA社에서 정제한 protopectinase 건조분말 효소(Enzyme Activity : 60 U/mL)를 사용하였다

### 2. 실험방법

#### 1) 포도의 단세포화

단세포화물의 제조는 Sakai T et al.(1995)의 방법을 수정하여 제조하였다. 포도 50 g을 pH 8.0으로 맞춘 20 mM Tris-HCl buffer 용액 100 mL와 효소용액 100 mL(증류수 대비 0.75% 효소액)를 혼합하여 1000 mL 삼각플라스크에 넣은 후 shaking incubator(KMC-8480F, Vision scientific Co. Ltd., Seoul, Korea)에서 250 rpm, 37℃에서 90분 동안 활성화 시킨 뒤 씨를 제거한 후, 20 mesh screen에 걸러져 나온 것을 단세포화물로 하였다. 한편 대조구는 효소를 첨가하지 않은 증류수 100 mL에 buffer 100 mL과 동량의 시료를 넣고 homogenizer(PT 10-35, Kinematica, Polytlin, Switzerland)로 7,000 rpm에서 약 30초간 마쇄하였다. 처리된 각 시료는 현미경(CX41, Olympus, Tokyo, Japan) 촬영을 실시하여, 단세포의 구성유무를 확인 하였다.

#### 2) 단세포 반응물의 저장조건과 열안정성

단세포화된 포도즙과 기계적으로 마쇄한 포도즙을 얻은 후 4℃ chamber(VS-9111H, Vision scientific Co. Ltd., Seoul, Korea)에서 7일 간격으로 sampling해서 4주간 연속적으로 측정하였다. 열안정성은 80℃에서 30분간 가열처리하여 색의 변화 및 이화학적 품질특성 정도를 관찰하는 방법으로 Park YK · Kang YH (2000)의 방법을 이용하

였다. 값은 3회 반복 측정하여 아래식을 이용하여 초기 시료값과 색도차를 나타내었다. 단세포 함유 반응물의 색도는 분광색차계(ColorquestII, Hunterlab, Naperville, USA.)를 사용하여, L(lightness), a(redness/greenness), b(yellowness/blueness)를 Reflectance mode에서 측정하였다. 시료 저장중 전체적인 색도차이를 보기 위해  $\Delta E = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2}$  값으로 나타내었으며, standard plate는 L=90.78, a=-0.90, b=0.52 의 값을 가진 표준판을 사용하였다.

### 3) 총산 함량 및 pH 측정

총산 함량은 단세포화된 포도즙을 0.1N NaOH로 적정하여 아래 식에 의해 주석산으로 산출하였고, pH는 pH meter(Model 420A, Orion Research Inc., Beverly, USA.)를 이용하여 3회 반복 측정하였다.

$$\begin{aligned} \text{총산(tartaric acid, \%)} &= \text{소요된 0.1N-NaOH의} \\ &\text{mL수} \times 0.1\text{N - NaOH의 factor} \times \text{주석산(0.0076)} \\ &\times \frac{\text{희석배수}}{\text{시료채취량(mL)}} \times 100 \end{aligned}$$

### 4) 총 폴리페놀 함량

단세포 함유 반응물을 원심분리하여 얻은 상등액 0.5 mL에 6.5 mL의 증류수를 첨가한 후 Folin-Ciocalteu 시약 0.5 mL를 첨가하고 3분간 방치하였다. 그리고 sodium carbonate 포화용액 1 mL를 첨가 후 1시간 방치한 후 725 nm에서 흡광도를 측정하여 표준 곡선으로부터 계산하였다 (Singleton VL · Rossi JA 1965). 이때 표준물질로는 gallic acid를 사용하였으며 3회 반복 측정 후 평균±표준 편차로 나타내었다.

### 5) DPPH radical 소거 활성

Kang MH et al.(2001)의 방법에 의해 시료 100 uL와 DPPH(1,1-diphenyl-β-picrylhydrazyl)를 메탄올에 100 uM의 농도로 녹인 DPPH 용액 900 uL

를 넣고 혼합하여 암실에서 30분간 방치한 후 UV/Vis spectrophotometer(UV/Vis 1601 PC, Shimadzu Co., Koyto, Japan)로 517nm에서 흡광도를 측정하였으며 DPPH radical 소거활성은 3회 반복 실험하여 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{소거활성능(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료첨가구의 흡광도}}{\text{무처리구의 흡광도}}\right) \times 100$$

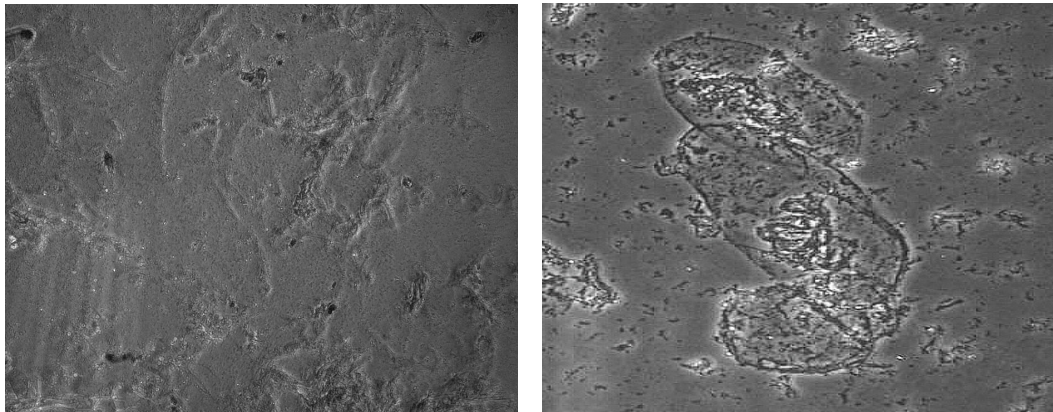
### 6) 통계처리

실험결과 얻어진 자료를 SAS(Statistical Analysis System, version 9.2, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) program을 사용하여 분석 하였으며, 분산 분석한 결과 시료간의 차이가 있는 항목에 대해서는 Duncan's multiple range test로 시료간의 유의차를 검정하였다( $p < 0.05$ ).

## III. 실험결과 및 고찰

### 1. PPase를 이용한 포도의 단세포화

Protopectinase(이하 PPase라 함)를 포도조직에 처리하여 현미경으로 관찰한 결과는 <Fig. 1>에 나타내었다. PPase가 처리된 경우에는 효소작용에 의해 조직세포가 단일의 세포로 유리되어 넓게 분포하고 있으며 동일한 크기의 세포로 분리되어 액상에서의 균일성을 보여주었다(Fig. 1(b)). 이는 PPase가 식물의 중엽부에 존재하는 proto-pectin을 분해하여 세포와 세포를 유리하는 것을 나타내는 것으로 식물성 식품소재에 대한 효소처리의 가능성을 보여주었다. 비교군인 기계 처리구(mechanically homogenize ; 이하 MH라 함)에서는 이와 대조적으로 조직을 구성하는 여러 세포가 기계적 작용에 의해 파괴되어 있으며 마쇄된 형태가 불규칙적이고 세포구조가 확인되지 않았다(Fig. 1(a)). 이러한 결과는 Lee et al. (1997b)의 연구 결과와 일치하는 것으로 효소처리에 의해 조직이 유리되어진 것을 확인할 수 있었으며, PPase는 식물조직으로부터 세포벽을 파괴하지 않으면서 단세포 형태로 세포를 유리시키



(a) mechanically macerated with a homogenizer, (b) treated with PPase

<Fig. 1> Microphotographs of grape suspensions (×200)

며, 세포내의 기능성, 영양성 성분 등과 관련된 세포 고유의 구성 물질들이 단세포 내에 함유되어 있음을 보여준다. 일반적으로 행해지고 있는 식물조직의 기계적 처리물에서는 세포내 성분이 파괴된 세포로부터 방출되어 존재하는 것을 확인할 수 있으며, 이를 통해 영양성 성분의 외부유리로 인한 영양성, 기능성의 손실을 추측할 수 있다. 아울러 PPase 처리가 식물조직으로부터 단세포를 유리할 수 있으며, 세포 구성 물질을 세포내에 함유할 수 있음을 확인하였다.

## 2. 단세포화물의 pH 및 총산 함량

<Table 1>은 포도를 PPase를 이용해 얻은 단세포화물과 기계처리 후 얻은 분해물을 열처리 전·후 4°C에서 28일동안 저장하면서 pH변화를 나타내었다. pH의 변화는 처리구에 상관없이 저장기간이 길어질수록 점점 낮아지는 경향을 나타내었으나 열처리 후에는 열처리 전 보다 pH 변화의 폭이 감소되는 경향을 나타내었다. 열처리 전 단세포 처리구와 기계 처리구의 pH변화는 기계 처리구에서 14일동안, 단세포 처리구에서는 7일동안 유의적인 차이가 나타나지 않았으나 열처리

<Table 1> The changes of pH in grape suspensions treated with protopectinase and mechanical maceration stored at 4°C

Storage period (days)	Without heating		After heating <sup>4)</sup>	
	MH <sup>1)</sup>	PPase <sup>2)</sup>	MH	PPase
0	3.65±0.09 <sup>a3)</sup>	3.65±0.09 <sup>a</sup>	3.72±0.09 <sup>ab</sup>	3.72±0.09 <sup>a</sup>
7	3.54±0.21 <sup>a</sup>	3.53±0.12 <sup>ab</sup>	3.73±0.04 <sup>a</sup>	3.62±0.04 <sup>ab</sup>
14	3.39±0.31 <sup>ab</sup>	3.31±0.19 <sup>b</sup>	3.62±0.04 <sup>bc</sup>	3.63±0.02 <sup>ab</sup>
21	3.16±0.07 <sup>b</sup>	3.35±0.16 <sup>b</sup>	3.63±0.04 <sup>abc</sup>	3.63±0.06 <sup>ab</sup>
28	3.14±0.09 <sup>b</sup>	3.35±0.08 <sup>b</sup>	3.58±0.06 <sup>c</sup>	3.54±0.03 <sup>b</sup>
F-value	4.82 <sup>*</sup>	3.80 <sup>*</sup>	4.08 <sup>*</sup>	4.48 <sup>*</sup>

<sup>1)</sup>MH: mechanically macerated with homogenizer in grape suspensions.

<sup>2)</sup>PPase: treated with protopectinase in grape suspensions.

<sup>3)</sup>a,b,c: means with the same letter in each column are not significantly different from each other at 5% level

<sup>4)</sup>After heating: treated with heating at 80°C for 30min.

\*: significant at  $p < 0.05$

후에는 단세포 처리구의 pH변화가 21일까지 유의적으로 안정을 나타내어 열처리 전보다 14일동안 단세포화물의 열안정성을 보여주었다.

<Table 2>는 열처리 전·후 저장기간별 총산 함량의 변화를 나타내었다. 총산 함량의 변화는 유의적인 차이가 pH의 변화보다 짧은 저장기간에 나타났으며 저장기간이 길어질수록 점점 높아지는 경향을 나타내었다. 열처리 후에는 단세포 처리구에서 기계 처리구보다 14일 이후에 유의적인 차이를 나타내어 단세포 처리구의 pH 변화폭과 같은 경향을 나타내었다. 이와 같은 결과는 단세포 처리구의 경우에는 세포벽이 세포내의 구성 성분을 보호하여 가열과 같은 식품의 산업적 가공에 미치는 영향이 최소화 되며 PPase에 의해 생성된 단세포화물은 식물성 식품소재의 가공 및 응용에 유리하다고 보고한 Lee DH et al.(2003)와 유사한 경향을 나타내었다. 또한 총산 함량의 변화는 pH의 변화와 밀접한 관계가 있으나 Baek KH et al.(2006b)이 보고한 마늘, 고추, 오이의 단세포화물의 최적 pH조건은 pH 5.0, 8.0 및 5.0이므로 본 실험결과와는 차이를 나타내었다.

### 3. 색도의 변화 및 열안정성

색도의 변화는 품질을 평가하는 가장 중요한 측정항목중의 하나이며 저장기간에 따른 색의 안정성을 확인한다면 그 품질 변화의 척도와 품질 수명에 대해서도 쉽게 알 수 있을 것이다. 열처리

과정은 많은 영양성분의 손실과 파괴를 가져오므로 단세포화물의 제조 시 이런 문제점의 해결을 가져올 가능성이 크므로 각각의 처리구 별로 열안정성을 비교하였다. 단세포화물로 만들어진 시료와 기계적 처리에 의해 만들어진 시료는 모두 4°C에서 저장하면서 색도차이의 변화를 연구하기 위해 7일 간격으로 4주 동안 L, a, b 값을 측정하였으며 그 결과는 <Table 3>과 같다. 열처리 전·후 기계 처리구에서는 a, b값 모두 저장기간 7일 이전에 유의적인 차이를 나타내었으나 L값은 열처리 후 14일까지 유의적인 안정성을 나타내었다. 이러한 결과는 이미 열처리 후 L값의 변화는 47.56에서 17.39로 색의 밝기가 큰 폭으로 감소하였기 때문에 이미 감소된 상태의 밝기의 변화는 열처리 후 저장기간이 경과하여도 밝기의 변화가 크게 일어나지 않았을 것이라 판단된다. 단세포화 후 색도의 변화는 열처리 전·후, L(47.56-17.39), a(34.35-44.62), b(20.72-23.29)의 값의 변화를 가져 왔으나, 단세포 처리구의 열처리 공정은 L, a, b값에서 저장기간 14일 이상까지 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 이러한 결과는 고추의 단세포화 후 색도의 변화는 20일까지 거의 원상태 그대로인 모습으로 외관상의 변화는 크게 없는 것으로 보고한 Baek KH et al.(2006b)과 같은 경향을 나타내었으며 Lee DH et al.(2003)은 PPase 처리에 의한 단감의 단세포화물과 기계처리물을 4°C에서 9일 동안 보관하며 색도의 변화

<Table 2> The changes of total acidity in grape suspensions treated with PPase and mechanical maceration stored at 4°C (%)

Storage period (days)	Without heating		After heating	
	MH <sup>1)</sup>	PPase <sup>2)</sup>	MH	PPase
0	1.02±0.06 <sup>c3)</sup>	1.02±0.06 <sup>c</sup>	1.30±0.05 <sup>b</sup>	1.30±0.05 <sup>abc</sup>
7	1.21±0.03 <sup>b</sup>	1.06±0.04 <sup>bc</sup>	1.36±0.02 <sup>a</sup>	1.27±0.01 <sup>c</sup>
14	1.18±0.04 <sup>b</sup>	1.13±0.05 <sup>b</sup>	1.35±0.01 <sup>a</sup>	1.29±0.01 <sup>bc</sup>
21	1.28±0.07 <sup>ab</sup>	1.26±0.05 <sup>a</sup>	1.35±0.01 <sup>a</sup>	1.32±0.01 <sup>ab</sup>
28	1.33±0.05 <sup>a</sup>	1.25±0.03 <sup>a</sup>	1.37±0.02 <sup>a</sup>	1.33±0.01 <sup>a</sup>
F-value	16.07 <sup>***</sup>	15.29 <sup>***</sup>	3.53 <sup>*</sup>	3.79 <sup>*</sup>

<sup>1)</sup>MH: mechanically macerated with homogenizer in grape suspensions.

<sup>2)</sup>PPase: treated with protopectinase in grape suspensions.

<sup>3)</sup>a,b,c: means with the same letter in each column are not significantly different from each other at 5% level

\*, \*\*\*, significant at  $p<0.05$ ,  $p<0.001$ , respectively.

를 관찰한 결과, 기계처리물의 경우에는 3일 이후부터 변화가 관찰되었으나 PPase를 처리한 단세포화물의 경우에는 시간이 경과하여도 변색정도가 외관상으로는 미미하였다고 보고하여 위의 결과와 같은 경향을 보여주었다. 한편 참다래(Lee DH et al. 2000)와 단감(Lee DH et al. 2003)의 PPase처리한 결과에서도 단세포화물은 100℃에서 일정시간 간격으로 상당 시간의 열처리에도 색상의 뚜렷한 변화가 없었으며, 이에 반해 기계처리구의 열처리의 경우 짧은 시간에도 색상의 변화가 가시적으로 확인되었다고 보고한 내용과도 같은 경향을 보여주었다. 위의 결과에서 색상의 차이를 구체적으로 살펴보기 위해 ΔE값을 측정하여 본 결과, 열처리 전에는 기계 처리구에서 저장 7일이 경과 후부터 6.0이상의 ΔE값을 나타내었으나 단세포 처리구에서는 28일이 경과하여도 6.0이하의 ΔE값을 나타내었다. 열처리 후에는 기계처리구에서 저장 14일, 단세포처리구에서는 저장 21일이 경과 하여야 ΔE값이 6.0이상으로 나타내었으며 이러한 결과는 ΔE값이 0-0.5는 두 시료간의 거의 차이가 없음을, 0.5-1.5는 약간의 차

이가 있음을, 1.5-2.0은 인지할 만한 차이가 있음을, 3.0-5.9은 현저한 차이가 있음을, 6.0-12.0는 극히 현저한 차이가 있음을, 12.0 이상은 두 시료가 다른 계열의 색상임을 의미(Kim SH et al. 1986)한다는 기준으로 비추어 볼 때 단세포 처리구에서도 열처리 전·후 색차의 차이는 발생하나 그 정도는 기계 처리구보다 크지 않은 것을 보여주었다.

위와 같은 결과는 식물세포내의 색소체가 PPase 처리의 경우에는 두터운 세포벽과 세포막에 쌓여 보호되나, 기계적 마쇄에서는 세포의 파괴에 의하여 세포의 용액으로 유리되어 외부에 노출되었으며, 이로 인해 변색이 일어난 것으로 판단되며 식물조직의 가공시에 PPase의 처리는 일반적 기계마쇄에 의한 가공공정보다 세포 내에 존재하는 일반 구성성분 및 영양물질이 세포 내에서는 안정한 상태로 유지된다고 보고한 Lee DH et al.(2003)와 같은 경향을 나타내었다.

#### 4. 총 폴리페놀 함량의 변화

<Table 4>는 포도를 PPase로 90분간 반응하여

**<Table 3> The changes of color in grape suspensions treated with PPase and mechanical maceration stored at 4℃**

Treatment	Storage period (days)	Without heating				After heating			
		L <sup>1)</sup>	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
MH <sup>2)</sup>	0	47.56±1.82 <sup>ad</sup>	34.35±1.51 <sup>d</sup>	20.72±0.46 <sup>d</sup>	0	17.39±0.92 <sup>a</sup>	44.62±3.76 <sup>b</sup>	23.29±1.46 <sup>c</sup>	0
	7	42.20±1.75 <sup>b</sup>	37.47±1.07 <sup>cd</sup>	22.98±0.14 <sup>bc</sup>	6.60	16.09±0.72 <sup>ab</sup>	47.96±1.50 <sup>ab</sup>	24.43±1.05 <sup>b</sup>	3.76
	14	42.00±2.67 <sup>b</sup>	39.07±2.03 <sup>bc</sup>	22.82±1.02 <sup>c</sup>	7.59	16.61±1.56 <sup>a</sup>	49.66±1.58 <sup>a</sup>	25.39±0.99 <sup>ab</sup>	5.52
	21	39.40±2.47 <sup>b</sup>	42.08±4.16 <sup>b</sup>	24.11±0.52 <sup>ab</sup>	11.74	14.10±0.95 <sup>bc</sup>	51.71±2.10 <sup>a</sup>	26.07±1.22 <sup>b</sup>	8.30
	28	38.64±1.69 <sup>b</sup>	46.43±0.77 <sup>a</sup>	24.85±0.79 <sup>a</sup>	15.57	13.15±1.56 <sup>c</sup>	51.88±3.04 <sup>a</sup>	28.27±1.12 <sup>a</sup>	9.77
	F-value	8.20 <sup>**</sup>	12.50 <sup>***</sup>	17.00 <sup>***</sup>		6.62 <sup>**</sup>	4.17 <sup>*</sup>	11.67 <sup>***</sup>	
PPase <sup>3)</sup>	0	47.56±1.82 <sup>a</sup>	34.35±1.51 <sup>b</sup>	20.72±0.46 <sup>b</sup>	0	17.39±0.92 <sup>a</sup>	44.62±3.76 <sup>b</sup>	23.29±1.46 <sup>c</sup>	0
	7	46.18±1.26 <sup>ab</sup>	37.64±0.49 <sup>a</sup>	20.68±0.21 <sup>b</sup>	3.57	16.83±0.83 <sup>ab</sup>	45.63±0.24 <sup>b</sup>	27.39±1.14 <sup>bc</sup>	4.26
	14	47.65±2.45 <sup>a</sup>	36.18±1.50 <sup>ab</sup>	21.76±0.56 <sup>ab</sup>	2.11	15.80±0.45 <sup>abc</sup>	47.17±0.32 <sup>ab</sup>	28.07±1.79 <sup>bc</sup>	5.65
	21	43.97±1.56 <sup>b</sup>	37.22±1.33 <sup>a</sup>	22.29±0.99 <sup>a</sup>	4.86	15.09±0.15 <sup>bc</sup>	47.27±0.13 <sup>ab</sup>	27.22±0.97 <sup>b</sup>	5.27
	28	43.46±0.84 <sup>b</sup>	38.15±0.40 <sup>a</sup>	22.40±0.74 <sup>a</sup>	5.84	14.54±1.71 <sup>c</sup>	49.45±0.24 <sup>a</sup>	30.38±0.91 <sup>a</sup>	9.04
	F-value	4.14 <sup>*</sup>	5.09 <sup>*</sup>	4.92 <sup>*</sup>		4.47 <sup>*</sup>	3.53 <sup>*</sup>	7.54 <sup>**</sup>	

<sup>1)</sup>L: lightness, a: redness/greenness, b: yellowness/blueness, ΔE: color difference.

<sup>2)</sup>MH: mechanically macerated with homogenizer in grape suspensions.

<sup>3)</sup>PPase: treated with protopectinase in grape suspensions.

<sup>4)</sup>a,b,c: means with the same letter in each column are not significantly different from each other at 5% level

\*, \*\*, \*\*\*: significant at p<0.05, p<0.01, p<0.001, respectively.

〈Table 4〉 The changes of polyphenol concentration in grape suspensions treated with PPase and mechanical maceration stored at 4°C

(Unit: mg/mL)

Storage period (days)	Without heating		After heating	
	MH <sup>1)</sup>	PPase <sup>2)</sup>	MH	PPase
0	1.09±0.02 <sup>ab3)</sup>	1.09±0.02 <sup>c</sup>	0.63±0.03 <sup>a</sup>	0.63±0.03 <sup>a</sup>
7	1.12±0.01 <sup>a</sup>	1.11±0.01 <sup>bc</sup>	0.60±0.01 <sup>ab</sup>	0.63±0.01 <sup>a</sup>
14	1.09±0.03 <sup>ab</sup>	1.11±0.01 <sup>bc</sup>	0.59±0.01 <sup>b</sup>	0.60±0.03 <sup>ab</sup>
21	1.07±0.03 <sup>b</sup>	1.14±0.04 <sup>ab</sup>	0.57±0.03 <sup>b</sup>	0.59±0.04 <sup>ab</sup>
28	1.03±0.01 <sup>c</sup>	1.17±0.01 <sup>a</sup>	0.59±0.01 <sup>b</sup>	0.56±0.01 <sup>b</sup>
F-value	8.11 <sup>**</sup>	6.46 <sup>**</sup>	3.83 <sup>*</sup>	3.91 <sup>*</sup>

<sup>1)</sup>MH: mechanically macerated with homogenizer in grape suspensions.

<sup>2)</sup>PPase: treated with protopectinase in grape suspensions.

<sup>3)</sup>a,b,c: means with the same letter in each column are not significantly different from each other at 5% level

\*, \*\*: significant at  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$  respectively.

열어진 단세포 반응물을 원심분리하여 얻은 상등액 중의 총 폴리페놀함량을 나타낸 것이다. 총 폴리페놀 화합물의 함량은 열처리 전에는 1.09-1.03 mg/mL, 열처리 후에는 0.63-0.56 mg/mL로 열처리전보다 약 50% 이상 감소되는 경향을 나타내었으며 이러한 결과는 포도반응물의 저장 중 색도의 변화와 깊은 관계가 있는 것으로 판단된다. 열처리 전에는 처리구에 상관없이 총 폴리페놀함량이 저장 14일까지 유의적인 차이는 나타나지 않았으나 열처리 후 단세포 처리구에서는 저장 28일부터 총 폴리페놀함량의 유의적인 차이가 나타나기 시작하여 저장 7일 이후부터 유의적인 차이가 나타나는 기계 처리구보다 안정적인 총 폴리페놀함량을 보여주었다. 이러한 결과는 *Bacillus subtilis* 균주로부터 조제한 PPase에 의해 생성된 침다래 단세포물이 열처리 가공에 별다른 영향을 받지 않을 뿐 아니라 가공 중에 발생하는 내용물의 품질변화 및 식품소재로의 가공 및 응용에 유리하다고 보고한 Lee DH et al.(2000)과 같은 경향을 나타내었다.

##### 5. DPPH radical 소거 활성의 변화

DPPH는 안정한 free radical로서 이들이 전자를 공여할 수 있는 다른 항산화 물질과 반응하게 되면 본래의 자색에서 무색으로 변하게 된다. 단순하면서도 신속하게 측정 대상 시료의 전자 공여에 의한 free radical 소거능을 측정하는 방법으

로 다양한 종류의 시료에 대하여 광범위하게 이용된다(Lee HR et al. 2008). 단세포화물의 DPPH free radical 소거 활성은 <Table 5>에 나타내었다. 열처리 전·후 DPPH free radical 소거능은 56.09, 50.62%로 열처리 후 처리구보다 열처리 전에서 높은 항산화성을 나타내었으나 저장기간이 경과할수록 free radical 소거능은 감소하는 경향을 나타내었다. 열처리 전·후 기계 처리구에서는 7일 경과 후부터 유의적인 차이가 나타났으나 단세포 처리구에서는 0일, 14일 이후부터 유의적인 차이를 나타내어 기계 처리구보다 다소 오랫동안 항산화성의 안정을 보여주었다. 그러나 본 연구에서는 총 폴리페놀함량의 양적차이가 크지 않아 포도주스의 DPPH free radical 소거능은 주스 내 항산화물질인 폴리페놀류를 보고(Lee MH et al. 2011)한 것과 일부 같은 경향을 보였으나 항산화성과의 상관관계는 미비한 것으로 판단된다. 그러나 국내산 포도즙과 머루주스의 항산화 활성을 조사 한 결과에서는 DPPH free radical 소거 활성이 국내산 포도즙에서는 70%이상, 머루주스는 90% 이상의 높은 활성을 나타낸다고 보고(Nam JH · Joo KJ 2004 ; Park HS 2010) 하였으며 Wang HGC · Prior RL(1996)은 미국에서 시판되고 있는 과일 주스의 성분 중 flavonoid성분 때문에 항산화 활성이 나타난다고 보고하였으며, Park HS (2011)은 머루종실의 항산화 효과는 페놀성 화합물의 함량과 높은 상관관계가 있다고 보고하였다.

<Table 5> The changes of DPPH radical scavenging activity in grape suspensions treated with PPase and mechanical maceration stored at 4°C (%)

Storage period (days)	Without heating		After heating	
	MH <sup>1)</sup>	PPase <sup>2)</sup>	MH	PPase
0	56.09±2.06 <sup>a3)</sup>	56.09±2.06 <sup>a</sup>	50.62±2.34 <sup>a</sup>	50.62±2.34 <sup>a</sup>
7	52.99±2.51 <sup>ab</sup>	50.74±0.37 <sup>b</sup>	50.13±2.02 <sup>ab</sup>	50.05±1.60 <sup>a</sup>
14	50.01±2.26 <sup>b</sup>	50.59±1.25 <sup>b</sup>	46.02±2.51 <sup>b</sup>	47.44±1.23 <sup>ab</sup>
21	42.80±1.83 <sup>c</sup>	49.63±2.07 <sup>b</sup>	41.22±1.70 <sup>c</sup>	46.45±1.21 <sup>b</sup>
28	42.75±2.53 <sup>c</sup>	48.52±1.35 <sup>b</sup>	37.24±3.23 <sup>c</sup>	45.57±1.97 <sup>b</sup>
F-value	21.39 <sup>***</sup>	10.64 <sup>**</sup>	17.14 <sup>***</sup>	4.96 <sup>*</sup>

<sup>1)</sup>MH: mechanically macerated with homogenizer in grape suspensions.

<sup>2)</sup>PPase: treated with protopectinase in grape suspensions.

<sup>3)</sup>a,b,c: means with the same letter in each column are not significantly different from each other at 5% level

\*, \*\*, \*\*\*: significant at  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ,  $p < 0.001$ , respectively.

#### IV. 요약 및 결론

가공식품의 개발에 있어서 식품의 맛과 더불어 저장성, 열안정성 및 색도유지는 소비자의 기호도에 중요한 영향을 미친다. Protopectinase(이하 PPase라 함)는 식물조직 중엽부의 성분인 불용성 proto-pectin을 분해하여 단세포화하는 효소이며 세포속에 함유되어있는 세포내 성분들을 파손없이 단세포로 유리하는 특징이 있다. 본 연구에서는 과일주스의 대표 과채류인 포도를 효소적, 기계적 방법으로 가공 처리하여 열처리 후 저장중의 품질변화를 상호 비교분석하여, 과채류의 효소 처리 가능성에 대한 기초자료를 제시하고자 하였다. 포도조직을 효소분해하여 유리된 세포를 관찰한 결과, PPase가 처리된 경우에서는 효소작용에 의해 조직세포가 단일의 세포로 유리되어 넓게 분포하고 있으며 동일한 크기의 세포로 분리되어 액상에서의 균일성을 보여주었다. pH의 변화는 처리구에 상관없이 저장기간이 길어질수록 점점 낮아지는 경향을 나타내었으나 열처리 후에는 열처리 전 보다 pH 변화의 폭이 감소되는 경향을 나타내었다. 총산 함량의 변화는 유의적인 차이가 pH의 변화보다 짧은 저장기간에 나타났으며 저장기간이 길어질수록 점점 높아지는 경향을 나타내었다. 색도의 변화는 열처리 전·후 기계 처리구에서는 a, b값 모두 저장기간 7일 이전에 유의적인 차이를 나타내었으나 L값은 열처

리 후 14일까지 유의적인 안정성을 나타내었다. 총 폴리페놀함량은 열처리 전에는 처리구에 상관없이 저장 14일까지 유의적인 차이는 나타나지 않았으나 열처리 후 단세포 처리구에서는 저장 28일부터 총 폴리페놀함량의 유의적인 차이가 나타나기 시작하여 저장 7일 이후부터 유의적인 차이가 나타나는 기계 처리구보다 안정적인 총 폴리페놀함량을 보여주었다. 열처리 전·후 DPPH free radical 소거능은 56.09, 50.62%로 열처리 후 처리구보다 열처리 전에서 높은 항산화성을 나타내었으나 저장기간이 경과할수록 free radical 소거능은 감소하는 경향을 나타내었다. 따라서 Protopectinase를 이용한 포도의 단세포화는 음료 제조 및 원료보존에 유용하게 응용가능하며, 나아가 포도 단세포화물의 폭넓은 식품 소재화 가능성과 고부가가치 기능성 식품제조에 이용될 수 있음을 의미한다.

#### 한글 초록

가공식품의 개발에 있어서 식품의 맛과 더불어 저장성, 열안정성 및 색도유지는 소비자의 기호도에 중요한 영향을 미친다. Protopectinase는 식물조직 중엽부의 성분인 불용성 proto-pectin을 분해하여 단세포화하는 효소이다. Protopectinase를 포도에 적용시켜 포도 고유의 세포속에 함유되어있는 세포내 성분들을 파손없이 단세포로 유리하



였다. pH, 총산 함량, 총 폴리페놀함량 및 항산화력은 기계 처리구보다 효소 처리구에서 보다 안정성을 나타내었으며 이는 단세포 처리에 의하여 이들 성분이 안정하게 유지됨을 알 수 있었다. Protopectinase로 처리된 포도 단세포화물을 4°C에서 28일간 저장하며 색도를 관찰한 결과, 단세포 처리구에서는 기계 처리구보다 색도의 차이가 미비하였으며 기계 처리구에서는 단세포 처리구보다 색의 변화가 크게 나타났다. 또한 포도 단세포화물을 80°C에서 30분간 열처리한 후 관찰한 결과, 기계 처리구의 경우가 단세포 처리구의 경우보다 품질의 변화를 크게 나타내어 이러한 결과는 효소적 단세포화물의 열 안정성을 의미한다. 따라서 Protopectinase를 이용한 포도의 단세포화는 과실음료제조 및 원료보존에 유용하게 응용 가능하며, 나아가 포도 단세포화물의 폭넓은 식품 소재화 가능성과 고부가가치 기능성 식품제조에 이용 될 수 있음을 의미한다.

### 참고문헌

- Baek KH, Kim SS, Tak SB, Kang BS, Kim DH, Lee YC(2006a). Quality characteristics of garlic suspensions using protopectin hydrolytic enzymes. *Korean J Food Preserv* 13(3):351-356.
- Baek KH, Kim SS, Lee YC(2006b). Characteristics of single cell suspension of garlic, red pepper and cucumber prepared by protopectin hydrolytic enzymes. *Korean J Food Sci Technol* 38(3):369-377.
- Bhat MK(2000). Cellulases and related enzymes in biotechnology. *Biotechnol Adv* 18(5):355-383.
- Call HP, Waler J, Emeis CC(1985). Maceration activity of an endo-polygalacturonase from *Candida macedoniensis*. *J Food Biochem* 9(4): 325-348.
- Gomez-Ruiz L, Garcia-Garibay M, Barana E(1988). Utilization of endo-polygalacturonase from *Kluyveromyces fragilis* in the clarification of apple juice. *J Food Sci* 53(4):1236-1240.
- Guillon F, Thibault J, Rombouts FM, Voragen AG, Pilnik W(1989). Enzymic hydrolysis of the "hairy" fragments of sugar-beet pectins. *Carbohydr. Polym.* 190(1): 97-108.
- Kang MH, Park CG, Cha MS, Seong NS, Chung HK, Lee JB(2001). Component characteristics of each extract prepared by different extract methods from by-products of *Glycyrrhiza uralensis*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30(1): 138-142.
- Kim SH, Oh HS, Yoon S(1986). Characteristics of pectinesterase(PE) in cucumbers. *Korean J Soc Food Sci* 2(2):55-61.
- Lee DH, Lee SC, Hwang YI(2000). Processing properties of kiwifruit treated with protopectinase. *Korean J Soc Food Sci Nutr* 29(3): 401-406.
- Lee DH, Lee SC, Hwang YI(2003). Characteristics of sweet persimmon treated with protopectinase from *Bacillus subtilis* EK11. *Korean J Soc Food Sci Nutr* 32(1):29-34.
- Lee HR, Jung BR, Park JY, Hwang IW, Kim SK, Choi JU, Lee SH, Chung SK(2008). Antioxidant activity and total phenolic contents of grape juice products in the Korean market. *Korean J Food Preserv* 15(3):445-449.
- Lee MH, Kim MS, Shin HG, Sohn HY(2011). Evaluation of antimicrobial, antioxidant, and antithrombin activity of domestic fruit and vegetable juice. *Korean J Microbiol Biotechnol* 39(2):146-152.
- Lee SC, Yuk HG, Hwang YI(1997a). Recovery yields of protopectinase depending on treatments of organic solvents. *Agric Chem Biotechnol* 40(2):107-111.

- Lee SC, Ko BS, Lee DH, Hwang YI(1997b). Cell separation of vegetable tissue by protopectinase. *Korean J Soc Food Sci Nutr* 26(3):430-435.
- Lee SC, Hwang YI(1999). Effect of medium composition on protopectinase production from *Bacillus subtilis* EKII. *Korean J Appl Microbiol Biotechnol* 27(5):378-384.
- Nakamura T, Hours RA, Sakai T(1995). Enzymatic maceration of vegetables with protopectinase. *J Food Sci* 60(3):468-472.
- Nam JH, Joo KJ(2004). Phenolic components and antioxidant capacity of some selected fruit juice and fermented grape juices. *J East Asian Soc Dietary Life* 14(5):501-507.
- Park HS(2011). Comparison of antioxidant activities of wild grape seed(*Vitis coignetia* seed) extracts by solvents. *Korean J Culinary Res* (17)1:270-279.
- Park HS(2010). Physicochemical property and antioxidant activity of wild grape(*Vitis coignetia*) Juice. *Korean J Culinary Res* (16)4:297-304.
- Park YK, Kang YH(2004a). Characteristics of suspension containing single cells from watermelon and muskmelon treated with cell separating enzymes. *Korean J Food Sci Technol* 36(1):58-63.
- Park YK, Kang YH(2004b). Effect of single cells of carrot and radish on the fecal excretion properties, mineral absorption rate and structure of small intestine and colon in rats. *Korean J Soc Food Sci Nutr* 33(3):505-511.
- Park YK, Kang YH(2000). Enzymatic maceration of vegetables with cell separating enzymes. *Korean J Postharvest. Sci Technol* 7(2):184-188.
- Renard CM, Voragen AG, Thibault J, Pilnik W(1990). Studies on apple protopectin I. Extraction of insoluble pectin by chemical means. *Carbohydr Polym* 12(1): 9-25.
- Sakai T, Hours R, Nakamura T(1995). Enzymatic maceration of vegetables with protopectinases. *J Food Sci* 60(3):468-472.
- SAS Institute, Inc(2002) SAS User's Guide. Statistical Analysis Systems Institute, Cary, NC, USA.
- Singleton VL, Rossi JA(1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J Enol Vitic* 16(3): 144-158.
- Toyama N, Owatashi H(1966). Extraction of green tea components from manufactured tea leaves using cellulase and a cell-separating enzyme. *J Ferm Technol* 44(3):830-834.
- Toyama V(1965). A cell separating enzyme as a complementary enzyme to cellulase and its applications in processing of vegetables. *J Ferm Technol* 43(3):683-689.
- Wang HGC, Prior RL(1996) Total antioxidant capacity of fruits. *J Agric Food Chem* 44(3):700-705.

---

2011년 10월 19일 접수  
 2012년 03월 07일 1차 논문수정  
 2012년 03월 17일 게재확정