

Aspergillus niger CF-34로부터 분리한 두부 또는 두유비지 가용화 복합효소의 특성

김강성 · 손헌수
(주)정 · 식품 중앙연구소

Characterization of Tofu-Residue Hydrolyzing Carbohydrase Isolated from *Aspergillus niger* CF-34

Kang Sung Kim and Heon Soo Sohn
Dr. Chung's Food Co., Ltd.

Abstract

Enzymatic solubilization of tofu-residue was attempted using carbohydrase isolated from *Aspergillus niger* CF-34. Tofu-residue, by-product of tofu manufacture or soymilk processing was used as the model for plant cell wall. It was found that tofu-residue was rich in nutrients: 46.7% carbohydrate, 32.8% protein, the rest being lipid and ashes. Carbohydrate component of tofu-residue consisted of 36.8% cellulose and 62.6% hemicellulose. The carbohydrase was found to consist of pectinase, xylanase, PGase, CMCase, and SFase when tofu-residue and pectin were used as the carbon source. Enzyme induction was maximum at 7 days of culture. Optimum reaction pH was 4.0, temperature 50°C. The enzyme was stable to 50°C, above which the stability decreased rapidly.

Key words: Tofu-residue, carbohydrase, solubilization, optimization.

서 론

우리나라에 있어 연간 식용으로 소비되는 대두의 양은 약 40만톤으로 그중 두부 및 두유 제조에 사용되는 대두 소비량은 약 13만톤으로 식용콩 소비량의 30%를 점하고 있다⁽¹⁾. 한편 두부 및 두유 제조과정중 생성되는 부산물인 비지는 약 80% 이상의 수분을 함유하고 있어 부패되기 쉬운 특성으로 인해 일부만이 동물사료로 충당되며 나머지는 부패된 상태로 폐기 처분되고 있는 실정인바 환경오염 측면에서도 중대한 문제점을 제기하고 있다. 더욱이 대두를 이용한 국내 두부 및 두유의 생산은 근래에 와서 거의 대부분이 공업적으로 대량 생산됨에 따라 그 생산 부산물인 비지도 양산되고 있다.

한편 영양학적인 측면에서 비지는 대두로부터 수용성 물질이 추출된 상태이기는 하나 상당량의 단백질과 탄수화물을 함유⁽²⁻⁴⁾하고 있고, 특히 두유 비지의 단백질은 다른 식품 단백질에서 부족되기 쉬운 황 함유 아미노산과 lysine의 함량이 비교적 많아 protein efficiency ratio가 대두, 두부 및 두유보다 높아서^(5,6) 양질의 단백질로 평가되고 있다. 따라서 비지의 식품화에 관한 연구가 절

실히 요구되는 실정이나, 이에 대한 성공사례는 아직 보고되지 않고 있다. 비지를 이용한 국내의 연구동향을 살펴보면 비지의 고온건조를 통한 가공식품에의 이용^(7,8) 된장 등의 장류 소재로서의 이용⁽⁹⁻¹²⁾ 대두로부터 식이 섬유 등의 추출⁽¹³⁻¹⁵⁾ 등을 들 수 있다. 한편 효소 처리를 통한 비지의 가용화는 70년대부터 널리 연구되어 왔는데, *Aspergillus*나 *Fusarium* 등의 곰팡이를 이용한 효소분해⁽¹⁶⁻¹⁹⁾ 등이 그 대표적인 예이다.

본 논문에서는 효소적인 방법에 의해 비지의 가용화를 시행하고자, 분양기관에서 입수한 균주 및 당해 연구소에서 보관중인 균주 44종류를 대상으로 스크리닝하여 그중 대두 섬유분해능이 가장 뛰어난 *Aspergillus niger* CF-34 균주를 선발하여, 이에 대한 연구결과를 보고하고자 한다. 효소적 처리방법은 반응조건 등이 기타 방법에 비해 비교적 온화하므로 식품공정으로 이용하기에 안정하므로 건조 등에 비해 선호되고 있다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용된 비지는 두유 생산시 부산물로 얻어지는 비지 즉, 정선, 반할된 대두를 열수 침지후 일정한 가수비에서 마쇄하여 수용성 성분을 추출하고 원심분리하여 얻어지는 비지를 냉장(약 4°C)하여 사용하였다.

Corresponding author: Kang Sung Kim 1-25 Song-Jung Dong, Chung Joo, Choong Chung Buk-Do 360-290, Korea

일반성분 분석

두유비지의 수분, 조단백, 조지방 및 조회분 함량을 A.O.A.C. method⁽²⁰⁾에 준하여 분석하였다.

식물섬유 분석

van Soest의 방법⁽²⁰⁾에 따라 건조, 분쇄된 비지시료 1 g과 100 ml acid detergent 용액(cetyl trimethylammonium bromide 20g을 1 N H₂SO₄ 1 l에 녹인 용액)을 500 ml 플라스크에 넣고 여기에 역류냉각장치를 연결하여 60분간 가열한 후 미리 정량해 놓은 funnel에 혼합물을 감압여과하고 온수 및 acetone으로 세척한 다음 하룻밤 건조정량(W₁) 하였다. W₁에서 회분의 무게를 제함으로서 cellulose와 lignin의 합계량인 ADF 값을 구하였다. 위에서 얻은 ADF에 72% H₂SO₄를 넣고 3시간 동안 저어준 다음 여과하고 온수와 acetone으로 세척하여 건조정량(W₃) 및 회화정량(W₄)하여 lignin 함량을 구하였다.

상기 방법에서 cellulose와 lignin 함량을 구하는 식은 다음과 같다.

$$\begin{aligned} \text{ADF} &= W_1 - W_2 \\ \text{Lignin} &= W_3 - W_4 \\ \text{Cellulose} &= \text{ADF} - \text{lignin} \end{aligned}$$

또한 van Soest 등의 natural detergent fiber(NDF)법⁽²⁰⁾으로 전술한 ADF법과 동일한 조작에 의해 NDF 값을 구하고 다음식으로 non-cellulosic polysaccharide를 구하였다.

균주 선정

당해 연구소에서 보관중인 균주 및 분양기관에서 분양받은 *Aspergillus* 및 *Rhizopus* 속의 균주를 대상으로 균주 선정에 수행하였다. 1차적인 활성검색은 배양 조효소액을 이용한 petri dish의 clear zone 생성여부와 환의 크기로 결정하였다. 대두 식물섬유 0.2%와 agar 1.5%를 citrate-phosphate buffer에 녹인 후 petri dish에 부어 냉각시킨 후 구멍을 만들어 조효소액 20 μl을 가하고 50°C에서 5시간 동안 반응하였다. 이것을 다시 냉각하여 ethanol과 acetone 혼합액(1:1)을 가하여 투명한 zone의 생성여부로 정성적인 효소활성을 판정하였다.

2차 활성검색은 진탕배양으로 생산된 조효소액의 섬유 분해능을 phenol sulfuric acid⁽²¹⁾방법으로 조사하였다.

조효소액의 발효생산

5 l fermentor((주)한국발효기)에 배지를 3 l 넣고 pH를 5.0으로 조절한 후 121°C에서 30분간 멸균시킨 후 선정된 균주의 포자현탁액을 10⁶/ml이 되도록 접종하여 30°C에서 300 rpm으로 교반하면서 배양을 하였다. 이때 통기량은 1 vvm이었으며, silicone 소포제로 기포발생을 억제하였다. 배지조성은 3% 비지, 0.8% pectin, 0.3%, NaNO₃, 0.1% K₂HPO₄, 0.05% MgSO₄·7H₂O, 0.05% KCl, 0.001% FeSO₄·7H₂O이고, 초기 pH는 5.0이었다. 배양이

종료되면 배양액을 여과하여 이를 조효소액으로 하였다.

효소 활성 측정

대표적인 탄수화물로 pectin, polygalacturonic acid, xylan, CMC, soyfiber를 1%로 만들어 효소활성을 측정하였다. 0.2 N citrate-phosphate buffer(pH 4.5)에 기질을 1%가 되도록 조제한 후 이 용액 1 ml에 효소액 0.2 ml를 가하여 50°C에서 30분간 반응시킨 후 0.8 ml의 stop reagent(0.5 N NaOH : Ethanol = 1 : 2)을 첨가하여 반응을 중지시킨 후 DNS법을 이용하여 생성된 환원당을 측정하였다⁽²²⁾. 1 unit는 분당 1 μmole의 포도당을 생산할 수 있는 효소의 양으로 정의하였다.

최적 pH 측정

고형분 4%의 비지용액을(건량기준) 제조하여 commercial HCl로 각 소정의 pH(2.5, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 6.0)로 조정하고, 각 비지용액을 45°C로 예열한 후 조효소액을 비지 고형분의 2.5%(V/Wt) 농도로 첨가하여 15분간 반응시켰다. 효소 반응된 비지용액을 수욕조에서 3분간 실활하고 원심분리(14,800×G, 15분, Beckman J2-21M/E, U.S.A.)하여 상정액을 취한 후 증류수로 1:1로 희석하여 phenol sulfuric acid법으로 각 pH별 상대활성도 측정하였다.

최적 반응온도 측정

고형분 4%의 비지용액을 최적 pH로 맞춘 후 효소반응 온도를 35°C, 40°C, 45°C, 50°C, 60°C로 달리하면서 각 온도별 상대활성도를 측정하였다.

pH 및 열안정성 측정

복합효소액의 pH 안정성 측정은 formate buffer(pH 2.0~3.5), acetate buffer(pH 4.0~5.0), phosphate buffer(pH 5.5~8.0) 및 tris buffer(pH 8.5~9.0)를 사용, 복합효소액을 소정의 pH(2.0~9.0)로 조정하고 4°C에서 24시간 방치하여 pH가 효소액의 실활에 미치는 영향을 조사하였다.

복합효소액의 열안정성 측정은 효소액을 소정온도(45°C, 50°C, 55°C, 60°C, 70°C)에서 80분간 예열하면서 시간별로 효소액을 취한다. 측정된 최적 pH 및 최적 온도로 조정된 고형분 4%의 비지용액에 온도별, 시간별로 채취된 복합효소액을 첨가하여 20분간 반응시킨 후 각 온도별 복합효소액 잔존활성도 측정하였다.

결과 및 고찰

일반성분 분석

두유비지의 수분, 조단백질, 조지방 및 조회분 함량을 A.O.A.C. 방법으로 분석한 결과 비지는 상당량의 단백질과 탄수화물을 함유하고 있으며 이들의 함량은 건물량으로 각각 32.77%, 46.74%로서 비지 전체 고형분 함

Table 1. Composition of tofu-residue

(unit : %)

Basis		Moisture	Crude protein	Crude fat	Ash	Carbohydrate
Soybean	Wet	9.20	36.90	17.90	4.80	31.20
	Dry	0	40.64	19.71	5.29	34.36
Tofu residue	Wet	83.40	5.44	2.76	0.64	7.76
	Dry	0	32.77	16.63	3.86	46.74

Table 2. Contents of cellulose, hemicellulose and lignin in tofu-residue

(unit : %)

	Insoluble dietary fiber	Cellulose	Hemi-cellulose	Lignin
Dry basis	17.02	6.27	10.65	0.1
%	100	36.8	62.6	0.6

량의 약 80%를 구성하는 성분들로 특히 불용성 성분을 다량 함유하는 탄수화물 성분의 효과적인 가용화가 비지의 이용성을 증가시키는 중요한 요인으로 생각된다 (Table 1).

한편 detergent 법에 의해 분석된 비지내 식물섬유의 성분조성은 Table 2와 같이 cellulose, hemicellulose, lignin 등 불용성 식물섬유(Insoluble dietary fiber) 합계가 건물량으로 약 17.02% 정도 차지하였다. 이⁽²⁾는 두부비지의 탄수화물 성분중 53.9%가 식물섬유 성분이라고 하였고, 이 등⁽¹³⁾은 실험실에서 조제된 두부비지 건물량의 57%가 식물섬유 성분이라고 보고하였다. 본 실험 결과와 이⁽²⁾, 이 등⁽¹³⁾의 실험결과에서 두유 및 두부비지의 식물섬유 함량이 차이를 나타내는 것은 비지의 제조방법 상에 의한 차이로 생각된다. 즉, 본 실험에 이용된 비지는 습식 마쇄처리된 비지로서 그 입자의 크기가 크기 때문에 수용성 성분이 충분히 용해되지 않아 불용성 식물섬유의 함량이 상대적으로 높은 것으로 사려된다.

비지 가용화 균주 선정

본 실험에서 활성을 검색한 균주는 당해연구소 및 분양기관에서 분양받은 균주로서 *Aspergillus niger* 및 *Rhizopus*가 대부분이었으며, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus saawamori*, *Aspergillus sojae* 등도 활성을 조사하였다. 1차적인 활성검색은 배양 조효소액을 이용한 petri dish의 clear zone 생성여부 및 환의 크기로 결정하였으며, 2차활성 검색은 flask 배양으로 생산된 조효소액의 soy-fiber 분해능을 측정하여 조사하였다. 활성측정 결과 *Rhizopus*속의 곰팡이는 1차 검색에서 전혀 활성을 보이지 않거나 아주 약한 활성을 나타냈으며, 2차 검색에서도 활성이 나타나지 않았다. *Aspergillus*속 곰팡이는 1차 검색에서 모두 활성을 보였으며 strain에 따라 clear zone 생성이 차이를 보여 2차 검색을 모두 수행하였다.

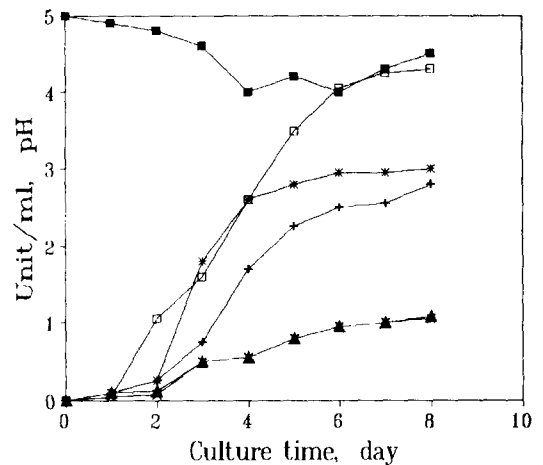


Fig. 1. Production of the various enzymes during the culture of *Aspergillus niger* CF-34 in the jar fermentor

■—■; pH, +—+; Pectinase, *—*; Xylanase, □—□; PGase, ×—×; CMCase, ▲—▲; SFase

그 결과 당해 연구소에서 보관중인 *Aspergillus niger* CF-34 균주가 비지 배지에서의 생육 및 1차 및 2차 효소검색에 있어서 모두 효소생산능이 가장 우수하였다.

배양조건이 효소생산에 미치는 영향

Fermentor에서 배양을 하면서 배양시간에 따른 효소의 생산에 관한 실험을 수행하였다(Fig. 1). 전반적으로 배양시간이 약 7일에 이르면 효소생산의 증가가 정지되어 최대 효소생산을 보였다. Xylanase는 배양 5일 후에 최대 효소 생산량에 도달하였으며, pectinase 및 polygalacturonase는 배양 6일 후에 효소생산의 증가가 감소되었으며, 그 후로도 약간의 증가가 고찰이 되었다. SFase 및 CMCase의 생산 역시 배양 6일째에 최대가 되어 그 후로 증가량은 아주 미미하였다. Protease는 배양 8일까지 계속 증가하는 현상을 보였다. 배지의 pH 변화를 관찰하기 위해 초기 pH를 5.0으로 조절하여 배양을 하였을 때 배양 4일째에 pH가 급격히 감소하여 4.0이 되었고, 이후 약간 증가하여 최종적으로 pH 4.0~4.4 정도가 되었다.

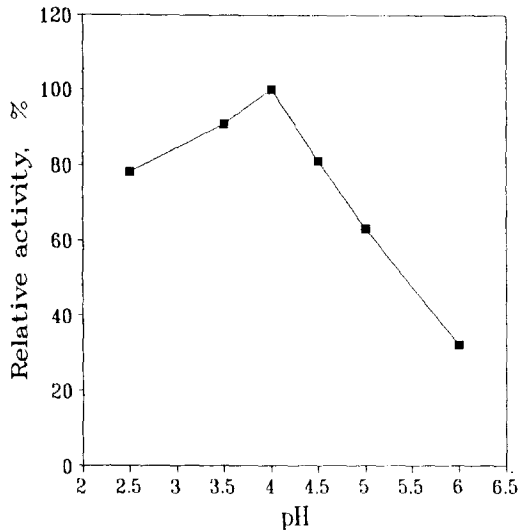


Fig. 2. Effect of pH on activity of the cell wall hydrolyzing enzyme complex

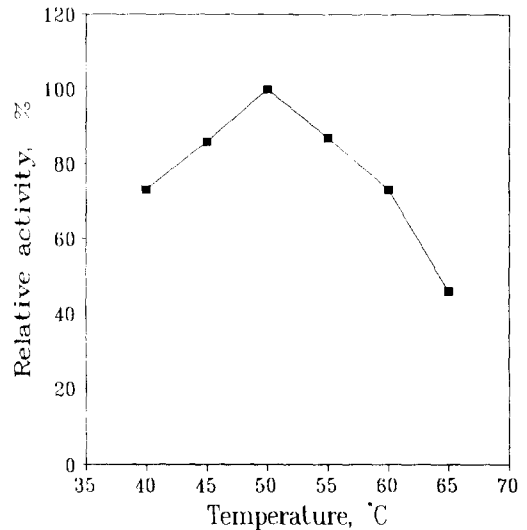


Fig. 3. Effect of temperature on activity of the cell wall hydrolyzing enzyme complex

이와 같이 얻은 조효소액을 이용하여 비지를 기질로 하였을 경우 나타나는 효소의 최적조건들을 측정하였다. 반응 기질로는 4%의 비지용액이 이용되었으며, 효소액량은 기질건량 기준으로 2.5%를 이용하였다.

최적 pH

본 실험에서 사용한 복합효소액의 비지에 작용하는 최적 pH를 조사하기 위하여 pH를 변화시키면서 효소 활성도를 측정한 결과는 Fig. 2와 같다. 실험 결과에서 복합효소액은 pH 4.0에서 최고의 활성도를 나타내며, pH 3.5에서도 비교적 높은 활성을 나타내는 산성 효소였다.

Eriksen⁽²³⁾는 전지대두분(full fat soy flour)을 이용 두유제조시 효소첨가로 단백질 및 고형분 회수율을 측정한 실험에서 cellulase, pectinase, hemicellulase 및 proteinase 등의 특성을 갖는 복합효소(SP-249, NOVO Ind. Co.)의 최적 pH가 4.5로 산성효소특성을 나타낸다고 하였고, Hara 등⁽¹⁹⁾은 감귤과피의 유효이용을 위해 *Aspergillus niger*가 생산하는 polygalacturonase의 특성을 조사한 결과에서 최적 pH를 2.5~4.0으로 발표하였고, Deschamps과 Huet⁽²⁴⁾도 *Aspergillus niger*가 생산하는 xylanase를 벗짚 발효에 처리시 pH 3.8~4.5에서 최대의 활성을 나타낸다고 보고하였다.

상기자들의 연구 결과와 본 실험 결과로부터 각각의 실험에 사용한 기질은 다량의 cellulosic material을 함유하는 유사한 기질특성이 있고, 또한 그 섬유소 물질을 분해하는 각 효소의 최적 pH가 거의 유사하였으며 이 최적 pH 범위는 *Aspergillus* sp. 유래의 상업용 효소의 최적 pH 범위와도 유사하였다.

최적 반응온도

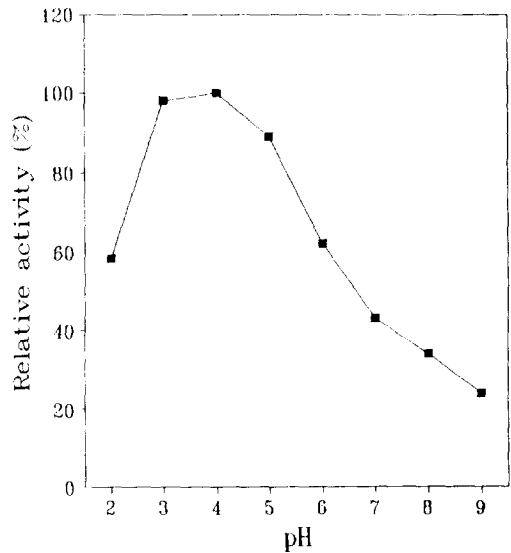


Fig. 4. Effect of pH on stability of the cell wall hydrolyzing enzyme complex

비지의 가수분해 최적온도를 측정하기 위하여 온도를 변화시키면서 측정한 각 온도별 효소 활성도는 Fig. 3과 같다. 실험에서 복합 효소액의 최적 온도는 50°C였고, 45°C 및 55°C에서도 비교적 높은 효소 활성도를 나타냈다. 이 실험결과는 Eriksen 등⁽²⁵⁾이 대두 및 비지를 가수분해하는 효소의 최적 반응온도가 50°C였다고 보고한 결과와 유사하였다.

또한 Hara 등⁽¹⁹⁾, Deschamps과 Huet⁽²⁴⁾, 이 등⁽²⁵⁾은 *Aspergillus* sp.가 생산하는 효소를 이용하여 섬유소 물질을

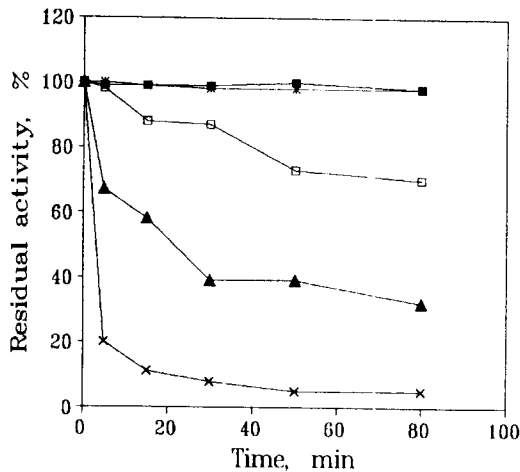


Fig. 5. Effect of temperature on stability of the cell wall hydrolyzing enzyme complex
 ■—■: 45°C, *—*: 50°C, □—□: 55°C, ▲—▲: 60°C, ×—×: 70°C

가수분해한 연구 결과에서 최적온도를 45~55°C로 보고한 바 있어 본 실험에 사용한 *Aspergillus* sp. 유래의 복합효소액 역시 이들 연구결과와 일치하는 50°C가 최적 온도였다.

pH 및 열안정성

Fig. 4에서 복합효소는 pH 3.5~4.0 범위에서 안정하였으며 특히 pH 4.0에서 최대 잔존활성을 나타냈다.

이 등⁽²⁵⁾은 *Aspergillus* sp.가 생산하는 pectic enzyme 즉, endo-polygalacturonase의 물리화학적 성질에 관한 연구에서 pH 3.5~4.5에서 안정성을 나타낸 결과를 보고하였다.

실험에 사용한 복합효소액 역시 *Aspergillus* sp.로부터 생산된 효소로서 이 등⁽²⁵⁾의 실험결과와 유사하게 산성 pH에서 높은 안정성을 나타내었다. 온도에 따른 효소 활성의 보존성 실험은 Fig. 5과 같이 50°C까지는 안정하였고, 55°C에서 80분 가열하여도 약 80% 전후의 활성을 유지하였다. 따라서 복합효소액을 두유비지 가용화를 위해 작용시킬 경우 최적 온도인 50°C에서 1시간 이상 처리하여도 비교적 열에 안정한 특성을 갖는다.

이상과 같이 *Aspergillus niger* CF-34로부터 얻은 효소를 이용하여 비지의 가용화 연구를 수행하였으며, 본 조효소액은 상업적으로 시판되는 carbohydrase에 비해 뒤떨어지지 않는 활성을 나타내었다. 본 효소를 이용할 경우, 비지의 가용화 뿐만 아니라 밀감과피의 분해, citrus pectin의 점도 저하 등 여러 식품가공에 이용할 수 있으리라 사료된다. 특히 반응 pH가 산성인 점과 열안정성이 50°C 부근에서 뛰어나므로 과즙 가공에 유용하리라 사려되며, 농축하지 않은 여과 조효소액이 기존 상업용

효소액에 비해 효소 활성도가 뛰어나므로 식품가공에 이용할 수 있으리라 생각된다.

요 약

두유 및 두부제조시 부생되는 비지를 효과적으로 이용하기 위한 방안으로 *Aspergillus niger* CF-34를 배양하여 얻은 복합효소를 두유비지에 처리하여 가용화를 시도하였다. 두유비지 가용화를 위한 연구에서 두유비지의 일반성분과 식물함유 성분 조성을 분석하였고, 두유비지에 작용하는 복합효소액의 최적반응조건을 조사하여 산업적인 이용가능성에 대해 분석하였다.

그 결과 두유비지는 탄수화물과 단백질이 각각 건물량으로 46.74%, 32.77%로서 상당량의 영양원을 함유하였으며, 두유비지의 탄수화물중 식물함유의 구성은 건물량의 36.8%가 cellulose, 62.6%가 hemicellulose로 구성된 고중합체이었다.

Aspergillus niger CF-34 배양액으로부터 얻은 복합효소는 pectinase, xylanase, PG-ase, CMCase, SFase 등의 활성을 보였으며, 배양시간에 따른 효소생산 실험 결과 배양 기간이 약 7일에 이르면 효소생산의 증가가 증지되어 최대 효소생산을 보였다.

조효소액의 최적반응 pH는 약 4.0, 온도는 50°C였으며, 안정성 역시 활성도와 동일한 범위에서 유지되었다.

문 헌

- 권태환 : 콩과 현대인의 건강. 현대인의 건강을 위한 콩 단백질의 영양과 이용 국제 심포지움 발표 논문집 (1993)
- 이귀주 : 효소제를 첨가한 비지의 발효과정중 탄수화물 성분변화에 관한 연구. 한국생화학지, 17(1), 44(1984)
- Baure, M.C., Clemente, M.G. and Banzon, J.: Survey of suitability of thirty cultivars of soybeans for soymilk manufacture. *J. Food Sci.*, 41, 1204(1976)
- 정성수, 장호남, 박우영 : 압착여과와 열풍에 의한 비지의 건조. 한국식품과학회지, 10(1), 1(1978)
- Hackler, L.R., Hand, D.B., Steinkraus, K.H. and van Buren, J.P.: A comparison of nutritional value of protein from several soybean fractions. *Nutrition*, 80, 205 (1963)
- Hackler, L.R., Stillings, B.R. and Ploimeni, R.J.: Correlation of amino acid indexes with nutritional quality of several soybean fraction. *Cereal Chem.*, 44, 638 (1973)
- 손정우, 김우정, 김상순 : 건조한 콩우유 비지와 밀가루 혼합물의 등온흡수 성질과 관계식. 한국식품과학회지, 17(2), 101(1985)
- 손정우, 김우정 : 건조비지 첨가에 의한 두부 품질의 변화. 한국식품과학회지, 17(6), 522(1985)
- 김재욱, 허병석, 박우포 : 두유박을 이용한 보리 된장 제조. 한국농화학회지, 32(2), 91(1989)
- 김재욱, 최준봉, 방찬식 : 두유박을 이용한 쌀 된장 제조. 한국농화학회지, 32(2), 98(1989)

11. 김재욱, 방찬식, 최준봉, 임춘선: 밀가루 코오지에 의한 두유박이용 밀된장 제조. *한국농화학회지*, 32(4), 357 (1989)
12. 김재욱, 임춘선, 허병석, 박우포, 전호남: 두유박 코오지를 이용한 밀된장 제조. *한국농화학회지*, 32(4), 362 (1989)
13. 이원중, 최미라, Sosulski, F.W.: 콩비지의 식이섬유와 단백질 분리. *한국식품과학회지*, 24(1), 97(1992)
14. 홍재식, 김명곤, 윤 숙, 유남수: 두유박과 사과쥬스박을 이용한 식이섬유원 제조. *한국농화학회지*, 36(2), 73 (1993)
15. 홍재식, 김명곤, 윤 숙, 유남수, 김용규: 사과쥬스박과 두유박으로 부터 제조한 식이섬유원을 보강한 면류 제조. *한국농화학회지*, 36(2), 80(1993)
16. Godfrey, T. and Reichet, J.: The application of enzyme in industry. In *Industrial Microbiology*, The Nature Press, New York, 9, 340(1983)
17. Chung, S.H. and Park, K.H.: Preparation of plant cell wall lytic enzymes from *Fusarium moniliforme* and protoplast isolation from plant leaf and cell suspension cultures. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotech.*, 18(2), 148 (1990)
18. Sharma, A. and Joseph, R.: Studies on the application of plant cell wall degrading enzymes from *Aspergillus terreus* and *Neurospora crassa*. *Biotechnol. Lett.*, 5(7), 481 (1983)
19. Hara, T., Fujio, Y. and Ueda, S.: Production of polygalacturonase by *Aspergillus niger* cultured in the medium containing mandarin orange peel. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 29(9), 538(1982)
20. AOAC: *Official methods of analysis*, 15th ed., Association of Official Chemists, Washington, D.C.(1990)
21. Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Roberts, P.A. and Smith, F.: Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal Chem.*, 28(1), 350(1956)
22. Bailey, M.J.: A Note on the use of dinitrosalicylic acid for determining the products of enzyme reaction. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 29, 494(1988)
23. Eriksen, S.: Application of enzymes in soy milk production to improve yield. *J. Food Sci.*, 48(2), 445(1983)
24. Deschamps, F. and Huet, M.C.: Xylanase production in solid-state fermentation: A study of its properties. *Microbiol. Biotechnol.*, 22, 177(1985)
25. 이봉기, 유주현, 양 용, 조세홍, 유 준: *Aspergillus* sp.가 생산하는 pectic enzyme에 관한 연구. *한국산업미생물학회지*, 4(2), 63(1976)

(1993년 12월 18일 접수)