

## 초임계 이산화탄소에 의한 감귤쥬스 중 pectinesterase의 불활성화

최미경 · 임상빈 · 고정삼\*

제주대학교 식품공학과, \*농화학과

### Inactivation of Pectinesterase in Citrus Juice by Supercritical Carbon Dioxide

Mi-Kyung Jwa, Sangbin Lim and Jeong-Sam Koh\*

Department of Food Science and Technology, Cheju National University

\*Department of Agricultural Chemistry, Cheju National University

#### Abstract

Citrus juice was treated with supercritical carbon dioxide ( $\text{SC-CO}_2$ ) as an alternative to heat for pectinesterase (PE) inactivation to minimize undesirable changes in flavor, color and ascorbic acid loss caused by the current heat treatment, and the effect of temperature (40, 50, 60°C), pressure (138, 276 bar) and process time (5~130 min) on PE activity was determined. PE in temperature control samples was inactivated by 54% at 40°C after 130 min, 84% at 50°C after 60 min and 83% at 60°C after 30 min treatment compared to the original juice. PE inactivation in  $\text{SC-CO}_2$  treated samples at 138 bar was 83% at 40°C after 130 min, 88% at 50°C after 20 min and 87% at 60°C after 10 min. %PE inactivation due to pressure was higher at low temperature and lower at high temperature. Higher temperature, pressure and longer process time resulted in higher %PE inactivation. Nonlinearity in the curves of PE inactivation at different temperatures and pressures indicated that at least two forms of PE existed in citrus juice with different stabilities.

Key words: supercritical carbon dioxide, citrus juice, pectinesterase

#### 서 론

1988년부터 1992년까지 가공원료로서 수매된 감귤의 평균 85% 정도가 음료공업의 원료로 이용되고 있어서 감귤가공은 주로 음료공업에 한정되고 있다<sup>(1)</sup>. 감귤쥬스의 품질을 결정하는 주요 요인 중의 하나는 혼탁도이다. 혼탁질은 cell wall fragments, oil droplets, chromatophores, hesperidin crystals을 함유하는 입자들의 불균일 혼합물로서 약 25%의 지질, 34%의 단백질, 32%의 페틴으로 구성되어 있다<sup>(2)</sup>.

페틴은 세포벽에 이온결합되어 있으며 천연 콜로이드 안정제로서 작용하며, 주스의 점도와 질감(body)을 부여하는 역할을 한다. 착즙한 천연 감귤쥬스는 다양한 pectinesterase (PE)를 함유하고 있는데, 이 효소는 citrus 과일에 multiple forms으로 존재하며 그 종 고분자량의 내열성 PE는 citrus fruit의 총 PE 중 5~30%에

불과하지만 주스 침전형성(cloud loss)의 주요 요인으로 작용한다<sup>(3)</sup>. PE는 페틴을 디메틸화시켜 pectic acid와 메탄올을 생성하며, 생성된 pectic acid는 칼슘이온들과 같은 2가 이온들과 칠레이트결합을 하여 불용성의 calcium pectate를 형성하여 혼탁입자들과 함께 침강되므로써 주스의 혼탁도를 소실시킨다<sup>(4)</sup>. 이를 방지하기 위하여 대부분의 경우 주스를 88~93°C에서 40초간 가열하여 PE를 불활성화시키는데, 이 때 필요한 열량은 pH와 펄프의 양에 의하여 좌우된다. 즉, pH가 높고 펄프량이 많으면 더 많은 열량이 요구된다<sup>(5,7)</sup>. 그러나 이와 같은 가열처리는 감귤쥬스의 색깔, 향기의 손실 및 변화, 아스코르бин산 등 유효 성분파괴로 인한 품질의 저하를 초래하게 된다. 이를 해결하기 위하여 효소처리<sup>(8,9)</sup>, 혼탁제<sup>(2)</sup>, oligogalacturonic acids<sup>(9)</sup>, 한의여과<sup>(10)</sup> 및 pH 저하<sup>(6)</sup> 등이 이용되어 왔다. 그런데 첨가물에 의한 안정화 방법은 제품의 형태 및 기호성의 변화 등을 일으키는 문제점을 수반하고 있으며, 또한 소비자들의 안정성에 대한 의식수준의 향상 및 건강욕구 증대에 따라 바람직하지 않다. 또한, 양이온 교환수지

Corresponding author: Sangbin Lim, Department of Food Science and Technology, Cheju National University, Cheju 690-756, Korea

또는 염산첨가에 의한 pH 저하 방법은 관능적으로 품질저하를 가져오는 문제점을 안고 있다.

초임계 이산화탄소가 미생물 또는 효소에 미치는 영향은 크게 두 가지로 이산화탄소에 의한 pH 저하와 고압을 들 수 있다. Kamihira 등<sup>(11)</sup>은 *S. cerevisiae*, *E. coli*, *S. aureus*, *A. niger*의 conidia를 203 bar, 35°C의 초임계 이산화탄소에 2시간 동안 노출시켰을 때 살균효과가 있었는데, 이는 이산화탄소에 의한 pH 저하로 효소의 불활성화나 지질과 같은 세포구성물질의 추출에 의한 것이었다. Arreola 등<sup>(12)</sup>은 오렌지쥬스의 aerobic total plate count에 대한 초임계 이산화탄소의 영향을 조사한 결과, 330 bar에서 호기성 미생물의 수를 100배 감소시키는데 35°C에서 1시간, 45°C에서 45분, 60°C에서는 15분이 걸렸다. 이러한 살균효과는 고압효과와 더불어 압력을 감소시킬 때(depressurization) 오렌지쥬스에 생기는 전단응력(shear force) 및 pH의 저하에 의한 복합적인 작용에 기인한다. Taniguchi 등<sup>(13)</sup>은 203 bar와 35°C에서 한시간 동안  $\alpha$ -amylase, lipase, catalase 등 9종의 효소를 초임계 이산화탄소로 처리하였을 때, 90% 이상의 효소활성이 유지되었는데 이는 낮은 압력 때문이라고 보고하고 있다. Haas 등<sup>(14)</sup>은 오렌지쥬스를 62기압의 초임계 이산화탄소로 처리하였을 때 PE가 불활성화되지 않았는데 이는 압력이 불활성화시키기에는 너무 낮기 때문이라고 지적하고 있다. 고압자체에 의한 효소의 불활성화인 경우 Suzuki와 Taniguchi<sup>(15)</sup>는 효소를 완전히 불활성화시키려면 1,013 bar 이상의 정수압이 필요한데, 이는 패타이드의 3차구조를 이루는 수소결합을 파괴하기 위해서는 매우 높은 압력이 요구됨을 보여주고 있다.

본 연구는 종래의 가열처리 방법에서 발생하는 감귤쥬스의 향기, 색 및 성분파괴 등 품질저하를 방지할 목적으로 감귤쥬스를 가열하는 대신 초임계 이산화탄소로 처리하여 처리시간, 온도, 압력과 같은 초임계 이산화탄소의 처리조건들이 감귤쥬스 중 PE의 불활성화에 미치는 영향을 측정하는데 그 목적이 있다.

## 재료 및 방법

### 재료

제주도에서 생산된 1995년산 감귤류 중 대표적인 품종인 궁천조생(*Citrus unshiu* Marc. var. *okitsu*)을 녹즙기[(주)태훈]로 착즙한 후 40 mesh체를 통과한 쥬스를 시료로 사용하였다.

### 초임계유체 처리

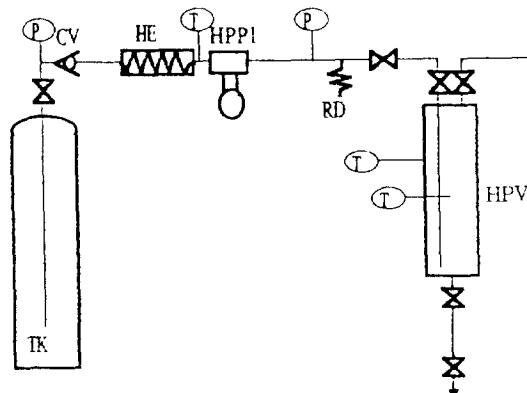


Fig. 1. Schematic diagram of supercritical fluid extraction system CV: check valve, HE: heat exchanger, HPP: high pressure pump, HPV: high pressure vessel, P: pressure gauge, RD: rupture disk, T: temperature indicator, TK: carbon dioxide tank

본 실험에 사용한 초임계유체 추출장치는 본 실험실에서 제작하여 사용하였는데 개략도는 Fig. 1과 같다. 먼저 300 ml의 고압용기(HPV)를 일정한 온도까지 올린 후 100 ml 감귤쥬스를 주입하였다. 탄산가스는 실린더(TK)로부터 check valve(CV)를 거쳐 고압용기에 가한 후 고압 퍼스톤 펌프(HPP)에 의하여 가압된다. 이 때 탄산가스 주입부의 공동화 현상을 방지하기 위하여 -20°C의 냉각조를 설치하여 이산화탄소의 기화를 방지하였다. 압력은 압력계(P)에 의하여 측정되고, 고압용기의 온도는 비례형 온도조절기에 의하여 조절( $\pm 1^\circ\text{C}$ )되며, 고압용기 중앙에 설치된 열전쌍온도계(T)에 의하여 측정된다. 이와 같이 일정 압력과 온도에서 감귤쥬스를 고압처리하면서 일정 시간마다 고압용기 하단의 밸브를 통하여 시료를 취하여 약 5°C의 수조에서 보관하면서 PE 활성을 측정하였다.

실험의 세 가지 변수는 압력, 온도 및 시간으로서 압력은 0, 138, 276 bar, 온도는 40, 50, 60°C, 시간은 온도에 따라 5, 10, 20분 간격으로 달리하였다. 모든 실험은 2~3회 반복 시행하여 평균치로 나타내었다.

### Pectinesterase activity

PE 활성은 Kimball<sup>(16)</sup> 방법에 의하여 측정하였다. 즉, 2 ml의 시료를 250 ml의 비이커에 가하고 여기에 25 ml의 0.15 M sodium chloride와 1 mM sodium azida에 용해한 1% 페틴 기질용액을 가하였다. 이것을 교반하면서 0.2 N NaOH로 pH 7.5까지 맞추었다. 여기에 0.005 N NaOH를 0.5 ml 가한 후 pH가 7.5까지 되돌아 오는데 걸리는 시간을 측정하여 PE 활성을 계

산하였다. 효소활성 단위는 측정조건에서 매분당 1 μmole의 carboxyl groups을 유리하는 효소량으로 나타내었다.

$$\text{PE units/ml} = \frac{(ml \text{ NaOH})(\text{normality of NaOH})(1000)}{(\text{time})(ml \text{ sample})}$$

## 결과 및 고찰

효소를 초임계 이산화탄소로 처리하면 고압효과와 더불어 일시적인 pH 저하와 처리후 압력을 감소시킬 때 생기는 전단응력에 의하여 효소가 불활성화될 수 있다. 이러한 효과를 검토하기 위하여 온주밀감 쥬스를 온도, 압력, 시간을 달리하여 초임계 이산화탄소로 처리한 후 PE 활성도를 측정하였다.

### 온도에 따른 PE 불활성화

Fig. 2는 대기압하에서 온도를 40, 50, 60°C로 달리하여 감귤쥬스를 처리하였을 때의 시간에 따른 PE 잔류활성도를 나타내고 있다. 40°C에서 처리하였을 때 0분, 즉 come-up time 직후에는 원래 쥬스 중의 PE의 15%가 불활성화되었고, 처리시간에 따라 점차 불활성도가 증가하여 130분 후에는 55%가 불활성화되었다. 온도가 증가할수록 불활성화되는데 소요되는 처리시간이 훨씬 단축되어 50°C에서는 원료 중의 PE의 84% 가 불활성화되는데 60분이 걸렸지만, 60°C에서는 10분밖에 소요되지 않았다.

Balaban 등<sup>(17)</sup>도 발렌시아 오렌지쥬스를 열처리하여 PE 불활성도를 측정하였는데 본 실험 결과와 비교하

여 볼 때 처리시간에 따른 불활성도가 작은 것으로 보아 온주밀감쥬스의 PE는 발렌시아 오렌지쥬스의 PE보다 열저항성이 작은 것으로 추정된다. 한편 60°C에서 처리시간 10분 후에는 더이상 PE가 불활성화되지 않았는데 나머지 16%의 PE는 열저항성이 큰 형태의 PE로 추정된다. Versteeg 등<sup>(5)</sup>은 네이블 오렌지쥬스로부터 3종류의 PE (PE-I, PE-II, PE-III)를 동정하였는데, PE-I과 PE-II는 전체의 90%를 차지하며 70°C에서 불활성화되었고 PE-III는 전체의 약 5%를 차지하며 90°C에서 23초간 가열하여야 불활성화되었다는 보고와 비교하여 볼 때 온주밀감쥬스의 효소패턴도 오렌지 쥬스와 유사한 것으로 추정된다.

### 압력에 따른 PE의 불활성화

Fig. 3은 압력을 달리하여 감귤쥬스를 초임계 이산화탄소로 처리하였을 때 시간에 따른 PE 잔류활성도를 나타내고 있다. 온도만으로 처리하였을 때는 처리시간에 따라 PE 불활성도가 15~55%인 반면 압력을 138 bar로 증가시켰을 때는 불활성도가 31~83%로 급격히 증가하였다. 따라서 온도와 더불어 초임계 이산화탄소로 압력을 증가시켰을 때 PE의 불활성도를 훨씬 높일 수 있었다. Balaban 등<sup>(17)</sup>도 발렌시아 오렌지쥬스를 40, 55, 60°C와 137, 310 bar에서 처리하였을 때 유사한 결과를 얻었는데, 40°C에서 온도만으로 처리하였을 때 120분 후에 4%의 불활성도를 얻은 반면 40°C/310 bar에서 처리하였을 때 75%의 불활성도를 얻었다. 한편 압력을 276 bar로 2배 증가시켰을 때는 138 bar의 경우와 동일한 PE 불활성도를 보여 더 이상의 압력효과를 기대할 수 없었는데 Balaban 등<sup>(17)</sup>도 발렌시아 오렌지쥬스를 60°C에서 137과 310 bar로 압력

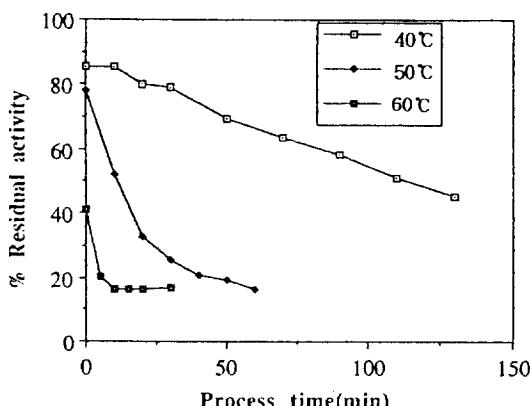


Fig. 2. Percent residual activity of pectinesterase in citrus juice vs process time with different temperature at atmospheric pressure

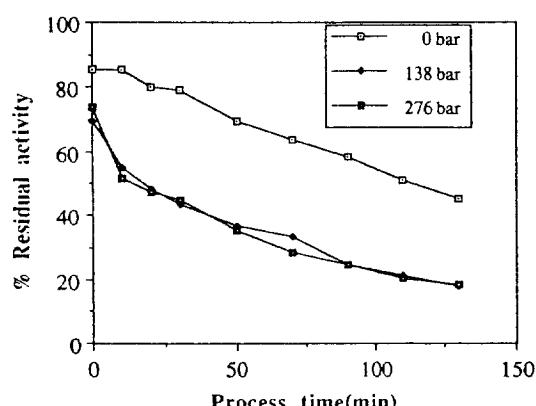


Fig. 3. Percent residual activity of pectinesterase in citrus juice vs process time with different pressure at 40°C

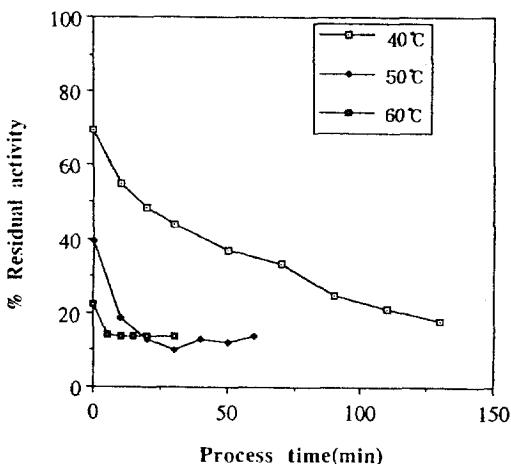


Fig. 4. Percent residual activity of pectinesterase in citrus juice vs process time with different temperature at 138 bar

을 달리하여 처리한 결과, 처리시간에 따른 불활성도는 거의 유사하였다.

#### 고압하에서 온도에 따른 PE 불활성화

Fig. 4는 138 bar에서 온도를 달리하여 감귤쥬스를 처리하였을 때 시간에 따른 PE 잔류활성도를 나타내고 있다. 40°C에서는 원료 중의 PE의 83%를 불활성화시키는데 130분이 소요된 반면 50°C에서는 88%가 불활성화되는데 20분이, 60°C에서는 87%가 불활성화되는데 10분 밖에 소요되지 않았다. 따라서 동일압력에서 온도가 증가할수록 처리시간에 따른 PE 불활성화도가 급격히 증가하였다. Balaban 등<sup>(17)</sup>은 310 bar에서 온도를 40, 55, 60°C로 달리하여 말렌시아 오렌지쥬스를 처리한 결과 PE를 90% 불활성시키는데 40°C에서는 240분이 소요된 반면 완전히 불활성화시키는데 55, 60°C에서는 각각 75, 60분이 소요되었다.

#### PE 불활성화의 주요 요인분석

Table 1은 온도와 처리시간에 따라 PE 불활성화에 미치는 주요 요인을 나타내고 있다. 즉, 40°C에서는 초임계 이산화탄소가 PE 불활성화에 미치는 영향이 큰 반면 50, 60°C에서는 압력보다는 온도가 PE 불활성화에 미치는 영향이 커다. 처리시간별로 보면 40°C에서는 처리시간에 따라 온도에 의한 불활성도는 증가하였지만 초임계 이산화탄소에 의한 불활성도는 유사하였다. 50°C에서는 40°C와 마찬가지로 처리시간에 따른 온도효과는 증가하였으나 증가폭은 적었으며, 특히 처리시간 초기에 초임계 이산화탄소에 의한 불

Table 1. Effect<sup>1)</sup> of temperature and SC-CO<sub>2</sub> (138 bar) on PE inactivation

Temp (°C)	Time (min)	% Reduction of PE by only TC <sup>2)</sup> (A)	% Reduction of PE by TC and SC <sup>3)</sup> (B)	% Reduction of PE by only SC (B-A)
40	10	14.6	45.1	30.5
	20	20.0	51.6	31.6
	30	20.8	56.3	35.5
	50	30.2	63.2	33.0
	70	36.2	66.7	30.5
	90	41.7	75.4	33.7
	110	48.8	78.8	30.0
	130	54.7	82.3	27.6
50	10	47.7	81.4	33.7
	20	67.2	87.1	19.9
	30	74.6	89.7	15.1
	40	79.2	86.9	7.7
	50	80.7	87.9	7.2
	60	83.7	86.3	2.6
60	5	79.6	85.7	6.1
	10	83.5	86.2	2.7
	20	83.5	86.2	2.7
	30	83.0	86.2	3.2

<sup>1)</sup>All experiments performed in duplicate or triplicate

<sup>2)</sup>TC: Temperature control treatment

<sup>3)</sup>SC: Supercritical carbon dioxide treatment

활성도가 컸다. 한편 60°C에서는 온도가 PE 불활성화의 주요 요인이며 초임계 이산화탄소의 효과는 미미하였다. 따라서 PE 불활성화 목적으로 초임계 이산화탄소를 사용한다면 40°C와 같이 낮은 처리온도에서는 높은 불활성화 효과를 얻을 수 있으나 초임계 이산화탄소만으로는 전체적인 불활성화 효과가 낮으므로 온도와 압력의 두 가지 효과를 고려할 때 바람직한 처리조건은 50°C/138 bar에서 20분이었다.

#### PE 불활성화 속도

압력과 온도에 따른 PE 불활성화 반응속도 상수인  $k$ 값과 이의 역수인 D (decimal reduction time)값을 계산하였다. 40°C/대기압, 40°C/138 bar, 40°C/276 bar, 50°C/대기압에서의 불활성화는  $\ln(N/N_0)$ 와 t (time)에 대한 직선적인 상관관계로부터 1차반응에 따름을 알 수 있었으나, 50°C/138 bar, 60°C/대기압, 60°C/138 bar에서는 직선적인 관계를 보여주지 않는 것으로 보아 1차반응에 따르지 않음을 알 수 있었다. 이와 같이 실험조건에 따라 PE 불활성화 반응형태가 다른 것으로 보아 온주밀감쥬스에는 안정성이 다른 2가지 형태 이상의 PE가 존재하는 것으로 추정되며, 오렌지쥬스의 경우처럼 안정성이 다른 multiple forms으로 존재하기

때문인 것으로 추정된다<sup>7)</sup>.

한편 1차반응에 따르는 처리조건에 대하여 D값을 계산한 결과 40°C/대기압하에서는 D값이 200분인 반면 40°C/138, 276 bar에서는 101분으로 2배 감소하였다. 이는 초임계 이산화탄소에 의한 pH 저하에 기인하는데 Wicker와 Temelli<sup>7)</sup>도 쥬스의 pH가 감소하면 D값도 감소한다고 보고하였다. 한편 50°C/대기압하에서는 D값이 39분이었는데 40°C에 비해 5배, 40°C/138 bar에 비해 2.5배가 작아 이 조건에서 PE는 압력보다 온도에 민감한 것으로 드러났다. Balaban 등<sup>(17)</sup>은 발렌시아 오렌지쥬스를 40°C와 55°C에서 처리하였을 때 D값은 2673과 141분이라고 보고하였는데 온주밀감쥬스와 비교하여 볼 때 D값이 큰 것으로 보아 온주밀감쥬스 중의 PE는 오렌지쥬스의 PE에 비하여 열저항성이 작은 것으로 추정된다. Versteeg 등<sup>(5)</sup>은 pH 4.0의 네이블 오렌지쥬스를 90°C로 처리하였을 때 D값은 PE-I, PE-II, PE-III에 대하여 각각 0.09, 0.02, 23초였으며, Wicker와 Temelli<sup>7)</sup>도 발렌시아 오렌지쥬스를 90°C에서 처리하였을 때 열불안정 PE의 D값은 0.225초, 열안정 PE의 D값은 32초라고 보고하였다.

한편 Owusu-Yaw 등<sup>(6)</sup>은 pH에 의하여 PE를 불활성화시키기 위해서는 pH가 2.4이하로 낮아야 한다고 보고하였는데, Balaban 등<sup>(17)</sup>에 의하면 35°C/310 bar로 오렌지쥬스를 초임계 이산화탄소로 처리하였을 때 pH가 초기에 3.6에서 2.96까지 저하되었다고 보고하였는데, 본 실험 조건(40°C/138, 276 bar)에서는 pH를 측정할 수 없었지만 pH는 이보다 낮았다고 추정된다. 따라서 본 실험조건에서의 PE 늘<sub>l</sub> 광화 기작을 추정하여 보면 펩틴은 음으로 하전되고, 염기성 단백질인 PE는 양으로 하전되어 효소기질 복합체를 형성할 때 free carboxyl group이 필수적인데 초임계 이산화탄소에 의한 낮은 pH에서는 펩틴의 pK<sub>a</sub>가 약 4.0인 점을 고려할 때 free carboxyl group의 해리도가 감소되어 효소의 기질에 대한 친화도가 급격히 감소되어 PE 활성이 저하되는 것으로 추정되었다<sup>(18)</sup>.

## 요 악

종래의 가열처리 방법에서 발생하는 감귤쥬스의 향기, 색 및 성분파괴 등 품질저하를 방지할 목적으로 감귤쥬스를 가열하는 대신 초임계 이산화탄소로 처리하여 처리시간, 온도, 압력 등 초임계 이산화탄소의 처리조건들이 감귤쥬스 중 PE의 불활성화에 미치는 영향을 측정하였다. 40°C에서 온도만으로 감귤쥬스를 처리하였을 때는 처리시간에 따라 PE 불활성도가 15~

55%인 반면 압력을 138 bar로 증가시켰을 때는 불활성도가 31~83%로 증가하였다. 138 bar에서 40°C로 처리하였을 때 원료 중의 PE의 83%를 불활성화시키는데 130분이 소요된 반면 50°C로는 88%가 불활성화되는데 20분이, 60°C로는 87%가 불활성화되는데 10분밖에 소요되지 않았다. 40°C에서는 초임계 이산화탄소가 PE 불활성화에 미치는 영향이 큰 반면 50, 60°C에서는 압력보다는 온도의 영향이 커다. 압력과 온도에 따른 PE 불활성화 반응속도 상수인 k값과 D값을 계산한 결과 처리조건에 따라 PE 불활성화 반응형태가 다른 것으로 보아 온주밀감쥬스에는 안정성이 다른 2가지 형태 이상의 PE가 존재하는 것으로 추정되었다.

## 감사의 글

이 논문은 1995년도 한국과학재단 연구비지원(과제 번호: 951-0603-033-1)에 의한 결과의 일부로서 이에 감사드립니다.

## 문 현

1. 고정삼, 강영주 : 제주농업과 감귤가공산업. 광일문화사, p.159 (1994)
2. Crandall, P.G., Matthews, R.F. and Baker, R.A.: Citrus beverage clouding agents-review and status. *Food Technol.*, **37**(12), 106 (1983)
3. 허원녕, Marshall, M.R.: Valencia 오렌지에서 내열성 및 비내열성 Pectinesterase 분리 정제. *한국식품과학회지*, **27**, 673 (1995)
4. Bruemmer, J. H.: Relationship of citrus enzymes to juice quilty. In *Citrus Nutrition and Quality*, Nagy, S. and Attaway, J. (Ed.), Chap. 8, Am. Chem. Soc. Washington, DC, Symp. Series, p.143 (1980)
5. Versteeg, C., Rombouts, F.M., Spansen, C.H. and Pilnik, W.: Thermostability and orange juice cloud destabilizing properties of multiple pectinesterase from orange. *J. Food Sci.*, **45**, 969 (1980)
6. Owusu-Yaw, J., Marshall, M.R., Koburger, J.A. and Wei, C.I.: Low pH inactivation of pectinesterase in single strength juice. *J. Food Sci.*, **53**, 504 (1988)
7. Wicker, L. and Temelli, F.: Heat inactivation of pectinesterase in orange juice pulp. *J. Food Sci.*, **53**, 162 (1988)
8. Baker, R.A. and Bruemmer, J.H.: Pectinase stabilization of orange juice cloud. *J. Agric. Food. Chem.*, **20**, 1169 (1972)
9. Termote, F., Rombouts, F.M. and Pilnik, W.: Stabilization of cloud in pectinesterase active orange juice by pectic acid hydrolysates. *J. Food Biochem.*, **1**, 15 (1977)
10. Dziezak, I.D.: New process concentrates juices, preserv-

- ing "fresh notes". *Food Technol.*, **43**(10), 148 (1989)
11. Kamihira, M., Taniguchi, M. and Kobayashi, T.: Sterilization of microorganisms with supercritical carbon dioxide. *Agric. Biol. Chem.*, **51**(2), 407 (1987)
12. Arreola, A.E., Balaban, M.O., Marshall, M.R., Wei, C.I., Peplow, A.J. and Cornell, J.A.: Supercritical carbon dioxide processing of orange juice: Effects on pectinesterase, microbiology and quality attributes. In *Supercritical Fluid Processing of Food and Biomaterials*, Rizvi, S.S.H. (Ed.), Chapman & Hall, New York, p.133 (1994)
13. Taniguchi, M., Kamihira, M. and Kobayashi, T.: Effects of treatment with supercritical carbon dioxide on enzyme activity. *Agric. Biol. Chem.*, **51**(2), 593 (1987)
14. Haas, G.J., Prescott, H.E., Dudley, E., Dik, R., Hintlian, C. and Keane, L.: Inactivation of microorganisms by carbon dioxide under pressure. *J. Food Safety*, **9**, 253 (1989)
15. Suzuki, K. and Taniguchi, Y.: Effect of pressure on biopolymers and model systems. In *The Effects of Pressure on Organisms*, Society for Exp. Biology (Ed.), Academic Press Inc. Publishers, New York (1972)
16. Kimball, D.: *Citrus Processing*. AVI, New York, p.117 (1991)
17. Balaban, M. O., Arreola, A. G., Marshall, M., Peplow, A., Wei, C. I. and Cornell, J.: Inactivation of PE in orange juice by SC-CO<sub>2</sub>. *J. Food Sci.*, **56**, 743 (1991)
18. 허원녕, Marshall, M.R.: Valencia 오렌지로부터 분리 정제한 비내열성 및 내열성 Pectinesterase의 성질. 한국식품과학회지, **27**, 666 (1995)

---

(1996년 2월 12일 접수)