

감자조직으로부터 유세포의 분리 및 분리수율에 영향을 미치는 감자의 품질특성

정길영 · 권오근¹ · 정진철² · 김현석*

국립안동대학교 식품생명공학과, ¹농촌진흥청 국립원예특작과학원,
²농촌진흥청 국립식량과학원 고령지농업연구소

Isolation of Parenchyma Cells from Potato Flesh and Potato Quality Characteristics Affecting Their Isolation Yields

Gil-Young Jung, Oh-Keun Kwon¹, Jin-Cheol Jeong², and Hyun-Seok Kim*

Department of Food Science and Biotechnology, Andong National University

*¹Floriculture Research Division, National Institute of Horticultural and Herbal Science,
Rural Development Administration*

²Highland Agricultural Research Institute, National Institute of Crop Science, Rural Development Administration

Abstract

The objective of this study is to investigate the optimal conditions for the isolation of individual parenchyma cells (PC) from domestic potato flesh, to determine the proper potato cultivars preparing the dehydrated potato PC to maximum yields, and to identify critical factors affecting the isolation of PC from potato flesh. The isolation yield of PC from frozen potato flesh was 2 times higher than that of raw potato flesh. Commercial pectinase cocktail with pectin lyase (relative to polygalacturonase) as a main enzyme was more effective in isolating PC from potato flesh. Once pectinase cocktail was diluted 200 times with deionized water, free potato starch granules and damaged/ruptured parenchyma cells were observed in dehydrated PC to a much less extent. During 2 h enzyme reaction, maximum yield (66.1%) of dehydrated PC was achieved at pH 2.5 and 50°C with 14:3 (v/w) mixing ratio of reaction medium and thawed potato flesh. Of domestic potatoes, Chuback, Chudong, Chuyoung, Dejima, and Gawon potato cultivars were appropriate for producing the dehydrated PC material. The isolation yields of PC from potato flesh were significantly influenced by the hardness of raw potato flesh and the total starch and non-starch polysaccharide content of potato.

Key words: potato, potato parenchyma cell, pectinase, chemical compositions, tissue hardness

서 론

감자(*Solanum tuberosum* L.)로부터 제조되는 건조식품소재들은 감자가루, 감자전분, 감자과립(potato granule), 감자 다이스(potato dice), 감자후레이크(potato flake)가 있다 (Chun & Kim, 2014). 건조감자소재들이 다양한 가공식품의 주원료 및 부원료로서 널리 활용되는 서구와는 달리 국내에서는 감자전분이 요식업의 조리원료로 사용되는 이외에 감자가루, 감자과립 및 감자전분이 스낵류 및 인스턴트 스프류의 가공식품에 제한적으로 사용되는 실정이다(Chun

& Kim, 2014; Shin et al., 2015). 국내 식품산업에 있어 건조감자소재들의 제한된 사용은 이들의 가격적인 측면을 고려하지 않더라도 감자를 주식으로 여기지 않으며, 고 열당반응 식품으로 인식되고(Ek et al., 2012), 감자가루 및 감자전분의 빠른 침강속도, 급격한 점도발달 및 끈적거리며 접착성이 강한 풀(paste)의 형성과 같은 통제가 용이하지 않은 가공적성 때문이다(Shin et al., 2015). 그래서 건조감자소재의 다양성을 확장시키고 산업적 활용도를 증대하기 위해 기존의 건조감자소재들과 다른 형태학적 특성을 보유한 건조감자소재가 개발되었다.

개발된 건조감자소재는 감자전분들을 내포하는 유세포들(parenchyma cells)의 집합체인 감자조직(Bordoloi et al., 2012)으로부터 손상되지 않은 개별 유세포들로 분리하고 건조하여 제조된다. 감자유세포는 감자엽육(potato flesh)을 킬레이트제를 포함한 묽은 수산화나트륨용액(Anantachote, 2009) 또는 펙틴 가수분해효소(Anantachote, 2009; Kim &

*Corresponding author: Hyun-Seok Kim, Department of Food Science and Biotechnology, Andong National University, Andong, Gyeong-sangbuk-do 36729, Korea

Tel: +82-54-820-5846; Fax: +82-54-820-6264

E-mail: khstone@andong.ac.kr

Received September 10, 2015; revised September 24, 2015; accepted October 1, 2015

Kim, 2015a, 2015b; Shin et al., 2015) 처리를 통해 유세포벽(parenchyma cell walls)의 중간층(middle lamella)에 존재하는 펙틴성 물질들(pectic substances)을 제거함으로써 분리된다. Anantachote (2009)는 킬레이트제를 포함한 묽은 수산화나트륨용액보다 polygalacturonase의 처리가 감자유세포의 분리시간을 단축하고 분리수율을 증가시키는 것으로 보고하였다. Kim & Kim (2015a, 2015b)은 polygalacturonase를 이용하여 스팀조리된 감자로부터 노화된 감자전분을 포함하는 감자유세포를 분리하였다. Kim & Kim (2015b)과 Shin et al. (2015)는 생감자로부터 polygalacturonase를 이용하여 호화되지 않은 상태의 감자전분을 포함한 감자유세포를 분리하여 건조감자유세포를 제조하였다. 현재까지 선행된 연구들(Anantachote, 2009; Kim & Kim, 2015a, 2015b; Shin et al., 2015)은 polygalacturonase를 이용하여 생 및 조리된 감자로부터 감자유세포를 성공적으로 분리하였지만 감자유세포의 분리를 위한 최적 효소반응조건을 보고하지 않았으며, 사용된 펙틴 가수분해효소도 건조감자유세포 소재를 상업적으로 생산하기에 비용적인 측면에서 애로사항이 있고, 감자유세포의 분리수율과 직접적인 연관이 있을 것으로 예상되는 감자전분 함량에 대한 저온저장기간의 영향을 간과하고 있다. 게다가 감자유세포의 분리수율에 대한 감자품종의 영향을 고려하지 않았으며, 건조감자유세포 소재의 제조를 위한 원료선정에 대한 기준을 제시하지 못하고 있다.

따라서 본 연구의 목적은 감자로부터 감자유세포의 분리를 위한 최적 효소반응조건을 조사하고, 최적 효소반응조건하에서 감자유세포의 분리수율에 대한 국내산 감자품종의 영향을 조사하였으며, 감자유세포의 분리수율과 감자의 성분학적 및 조직경도 사이의 상관분석을 통해 건조감자유세포 소재의 제조에 적합한 감자원료의 선정기준을 탐색하였다.

재료 및 방법

재료

국내에 존재하는 가윈(Gawon), 가황(Gahwang), 고운(Goun), 남서(Namseo), 남작(Irish Cobbler), 대서(Atlantic), 대지(Dejima), 방울(Bangul), 수미(Superior), 신남작(Sinnamjak), 새봉(Sebong), 셰푼(Shepody), 조원(Jowon), 조푼(Jopung), 추강(Chugang), 추동(Chudong), 추백(Chuback), 추영(Chuyoung)의 18품종 일반감자들과 서홍(Seohong), 자서(Jaseo), 자심(Jasim), 자영(Jayoung), 하령(Haryeong), 홍영(Hongyoung)의 6품종 유색감자들을 농촌진흥청 국립식량과학원 고령지농업연구소(Pyeongchang, Gangwon, Korea)로부터 제공받았다. 공급받은 감자들(2013년 여름 수확하여 12월까지 저장된 것)은 상대습도 90-95%의 저온저장고(4°C)에 저장하였으며, 이중 일부는 세척·박피하여 1 cm 두께의

막대모양으로 세절하고 폴리프로필렌 지퍼백에 넣어 -45°C에서 48시간 동안 급속동결한 후 -18°C의 냉동고에서 저장하면서 본 연구의 재료로 사용하였다. 상업적인 펙틴 가수분해효소 혼합물은 식품첨가물 등급으로 pectin lyase가 주성분인 Novozym 33095 (1,150 U/mL)와 polygalacturonase가 주성분인 pectinex Ultra SP-L (540 U/mL)을 아피스바이오켄(Daegu, Korea)으로부터 구입하여 사용하였다. 여기서 효소 1 unit (U)은 주어진 조건(40°C, pH 3.5) 하에서 단위시간(per minute) 당 1 μ mole의 α -D-galacturonic acid를 생성하는 효소의 양으로 규정하였다. 이외 감자분말의 분석 및 감자유세포의 분리에 사용된 시약과 용매들은 ACS 등급 이상의 것을 사용하였다.

감자로부터 유세포의 분리

감자조직으로부터 유세포 분리의 최적조건 탐색은 대지 품종의 국내산 감자를 이용하였으며, 감자조직의 상태, 펙틴분해효소의 종류, 효소반응온도, 효소반응 pH, 효소반응 시간, 펙틴 가수분해효소용액의 희석배수 및 감자조직과 반응용액의 혼합비율을 감자유세포 분리조건들로 하였다. 세척·박피한 생감자는 정육면체 모양(1 cm × 1 cm × 1 cm)으로 세절하여 흐르는 물로 감자의 표면으로 배출된 전분을 세척하여 표면수분을 제거하였다. 동결된 감자는 0.1% (w/v) ascorbic acid 용액에 담가 4°C에서 18시간 동안 해동하고 생감자의 처리와 동일하게 준비하였다. 준비된 감자 시료들은 100 mM citrate 완충용액(350 mL)과 혼합하고 ascorbic acid (140 mg)을 가하여 효소반응온도에서 기계식 교반기(overhead stirrer MS-3060, Misung Scientific Co. Ltd., Yangju, Korea)를 이용하여 100 rpm으로 30분 동안 효소반응온도에서 교반하였다. 30분 후 펙틴 가수분해효소 희석액을 1 mL를 가하고 효소반응온도에서 효소반응시간 동안 교반하면서 효소반응시켰다. 효소반응시간 후에 반응 혼합물은 20 mesh와 140 mesh 표준체들(No. 20 & 140, Chunggye, Seoul, Korea)을 순차적으로 통과시키고 140 mesh 표준체 위의 감자유세포들은 흐르는 물로 5분간 세척하고 과량의 탈이온수에 분산시켜 10분간 방치한 후 140 mesh 표준체를 이용하여 회수하였다. 감자유세포들은 무수에탄올(300 mL)에 분산시켜 10분간 탈수하여 감압여과하고 45°C에서 48시간 동안 건조하여 건조감자유세포를 제조하였다. 감자유세포의 분리수율은 감자유세포의 건조증량에 대한 감자유세포 분리를 위해 사용된 감자시료의 건조증량의 백분비율로 나타내었다.

감자유세포의 현미경 관찰

감자유세포(0.1 g)는 증류수(2 mL)에 분산시키고 1.0% (w/v) Congo red 수용액을 2 mL 가한 후 상온에서 5분 동안 염색하고 상등액이 투명해질 때까지 증류수로 세척하였다. 염색된 감자유세포는 역상광학현미경(Axiovert 100,

Carl Zeiss Microimaging Inc., Thornwood, NY, USA)을 이용하여 40배의 배율로 관찰하였다(Kim & Kim, 2015a).

생감자의 고형분 함량

세척·박피한 생감자의 중심부분을 취하여 적외선수분측정기(LJ16, Mettler-Toledo AG, Greifensee, Switzerland)를 이용하여 105°C에서 수분함량을 결정하고, 고형분 함량은 100에서 수분함량을 차감하여 계산하였다.

감자가루의 제조

생감자는 세척·박피한 후 1 cm 두께의 막대모양으로 절단하고 -80°C에서 36시간 동안 동결한 후 진공동결건조기를 이용하여 4일 동안 건조하였다. 건조된 감자는 가정용 믹서기(HMF-3450S, Hanil Electric, Incheon, Korea)를 이용하여 분쇄하여 50 mesh 표준체(No. 50, Chunggye, Seoul, Korea)를 통과시킨 후 PET 사각 샘플병(500 mL)에 넣어 상온에서 보관하면서 분석시료로 하였다.

감자가루의 성분분석

수분함량은 적외선수분측정기(LJ16, Mettler-Toledo AG, Greifensee, Switzerland)를 이용하여 105°C에서 정량하였고, 조단백질 함량은 Kjeldahl법에 의해 총 질소 함량을 측정 후 단백질 환산계수 6.25를 곱하여 계산하였다(AOAC, 2000). 조회분과 조지방 함량은 각각 AOAC법 923.03과 960.39에 따라 분석하였다(AOAC, 2000). 총 탄수화물 함량은 감자가루의 건조중량 100 g에서 조단백질, 조지방과 조회분의 건조중량의 합을 차감하여 계산하였다. 감자가루의 총 전분 함량은 총 전분 분석 kit (total starch assay kit, Megazyme Int., Wicklow, Ireland)을 이용하여 AACC 법 76-13에 준하여 분석하였다(AACC, 2010). 비전분성 탄수화물 함량은 총 탄수화물 함량에서 총 전분 함량을 차감하여 나타내었다.

감자가루의 펙틴 함량을 결정하기 위하여 감자가루 1 g (d.b)과 추출용매(0.75% sodium hexametaphosphate를 함유한 0.05 M NaOH) 25 mL을 50 mL 원심분리관 안에서 혼합하여 25°C에서 2시간 동안 진탕하고 3,000 g에서 30분간 원심분리하였다. 상등액은 100 mL 정용플라스크로 옮기고 침전물은 추출용매 25 mL에 다시 분산시켰다(Nurdjanah et al., 2013). 이와 같은 펙틴 추출조작은 총 3회 반복하였다. 추출조작으로부터 회수하여 100 mL 정용플라스크에 취합한 상등액은 탈이온수를 가하여 100 mL로 정용하였다. 추출된 펙틴은 carbazole-sulfuric acid법에 따라 D-galacturonic acid를 정량하여 나타내었다(Taylor & Buchanan-Smith, 1992). 펙틴용액 0.1 mL를 유리시험관에 넣고 농축황산 3 mL와 0.1% (w/v) carbazole (2526-4425, Daejung Chemicals & Metals Co. Ltd., Siheung-si, Gyeonggi-do, Korea) 용액 0.1 mL를 가하여 혼합하였다. 반응혼합물은 60°C에서 1시

간 동안 반응시킨 후 530 nm에서 흡광도를 측정하고 D-galacturonic acid (73960, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) 표준용액을 사용하여 작성된 검량곡선에 의해 D-galacturonic acid 함량을 측정하고 아래 식에 따라 감자가루의 펙틴함량을 계산하였다.

펙틴함량(% , d.b)

$$= \frac{D - galacturonic\ acid\ 의\ 농도\ (g/mL) \times 100\ mL \times 0.9}{감자가루의\ 무게\ (g, d.b)} \times 100$$

여기서 0.9는 anhydrogalacturonic acid의 물질량(176.14 g/mol)에 대한 galacturonic acid의 물질량(194.14 g/mole)의 비율이다.

감자조직의 압착경도

세척·박피한 생감자의 중심부를 직경 2 cm, 높이 2 cm의 원기둥으로 성형하여 압착경도를 위한 시료로 하였으며, 생감자 1개 당 분석시료 1개를 제조하였고, 총 10개의 시료에 대해 압착경도를 반복하여 측정하였다. 압착경도는 원형 probe(지름 75 mm)가 장착된 물성분석기(TX-TA, Stable Micro Systems Ltd., London, UK)를 이용하여 측정하였다. 원통형 생감자 시료는 변형을 30%로 압착하였으며, 물성분석기 운전조건은 pre-test speed 2.0 mm/s, test speed 1.0 mm/s와 post-test speed 10 mm/s이었다.

통계분석

감자유세포의 분리는 반응조건에 따라 3회 반복하여 수행하였으며, 감자가루의 성분특성의 분석과 측정은 최소 3회 이상 반복하였고, 감자조직의 압착경도는 감자품종 및 처리조건에 따라 10회 반복하여 측정하였다. 측정된 특성치들과 감자유세포의 분리수율은 one-way ANOVA 분석을 수행하여 평균±표준편차로 나타내었으며, 평균값들 사이의 통계적 유의성은 95% 신뢰수준에서 Tukey법을 이용하여 분석하였다. 또한 감자유세포의 분리수율, 감자가루의 화학적 성분 특성들과 감자조직의 압착경도 사이의 상관관계를 조사하기 위해 Pearson's correlation을 수행하였다. 모든 통계적 계산과 분석은 Minitab 16 (Minitab Inc., State College, PA, USA)에 의해 수행되었다.

결과 및 고찰

감자유세포 분리조건 탐색과 감자품종별 건조감자유세포의 수율

펙틴 가수분해효소를 이용하여 유세포의 집합체로 구성되어 있는 감자조직으로부터 유세포를 개별적으로 분리하기 위한 효소반응조건을 탐색하였다(Table 1). 감자유세포 분리수율에 대한 감자조직의 상태에 대한 영향을 조사하였을 때, 생 감자조직을 원료로 사용하는 것(22.3%)보다 냉

Table 1. Effects of separation conditions on the yields of parenchyma cells from potato whole-tissues

Set	Potato status	Enzyme type	E (times)	pH	T (°C)	t (h)	V (mL)	W (g)	Yield ¹⁾ (%)	
I	Raw	33095	200 ²⁾	2.5	50	3	350	75	22.3±2.6 ^b	
	Frozen								56.7±1.5 ^a	
II	Frozen	33095	200 ²⁾	2.5	40	3	350	75	25.4±5.9 ^c	
									40	45.3±3.1 ^b
									50	58.1±2.4 ^a
III	Frozen	33095	200 ²⁾	2.5	50	1	350	75	28.0±6.9 ^b	
						2			60.7±3.6 ^a	
						3			58.4±2.3 ^a	
IV	Frozen	33095	200 ²⁾	2.5	50	2	350	75	61.6±1.1 ^a	
				3.5					42.5±5.6 ^b	
				4.5					21.6±2.1 ^c	
				5.5					0.4±0.1 ^d	
V	Frozen	33095	50 ³⁾	2.5	50	2	350	75	52.9±5.6 ^b	
			100 ⁴⁾						53.6±3.8 ^b	
			200 ²⁾						63.8±3.1 ^a	
			400 ⁵⁾						48.8±3.5 ^b	
VI	Frozen	33095	200 ²⁾	2.5	50	2	350	75	61.4±1.8 ^a	
		SPL							54.6±3.4 ^b	
VII	Frozen	33095	200 ²⁾	2.5	50	2	350	50	49.6±0.7 ^b	
								75	66.1±3.1 ^a	
								100	51.4±1.8 ^b	
								150	36.3±0.3 ^c	
VIII	Frozen	-	-	2.5	50	2	350	75	0.1±0.0	

[Abbreviation] E: dilution times of enzyme solution, T: reaction temperature, t: reaction time, V: volume of the reaction medium, W: potato weight (w.b).

¹⁾Mean value of three measurements; values sharing the same lowercase letter within a column of a set are not significantly different ($p < 0.05$).

²⁾5.8 U/mL.

³⁾23 U/mL.

⁴⁾11.5 U/mL.

⁵⁾2.9 U/mL.

⁶⁾2.7 U/mL.

동감자조직을 해동하여 사용하는 것(56.7%)이 유의적으로 높은 분리수율을 나타내었다($p < 0.05$; Table 1-Set I). Bordoloi et al. (2012)은 유세포들은 생 감자조직 내에 치밀하게 압착되어 있어 그들의 크기와 모양이 다양하다고 보고하였다. 냉동채소들(연근, 양파)을 해동 시 수분 및 영양성분의 손실로 유의적인 수준의 해동감량(drip loss)이 발생한다고 보고하였다(Jang et al., 2014; Park & Song, 2015). 본 연구에서 생 감자조직보다 냉동감자조직이 높은 유세포 분리수율을 나타낸 것은 냉동감자조직의 해동에 따른 유세포 내의 수분과 세포액의 드립(drip)으로 유세포가 수축되어 유세포들 사이에 존재하는 펙틴성 물질들에 대한 펙틴 가수분해효소들의 작용이 생 감자조직보다 용이하였기 때문으로 생각된다. 따라서 건조감자유세포 소재의 생산을 목적으로 할 때 감자를 냉동하여 저장하면서 사용하는 것이 감자의 저온(4-8°C) 저장 시 저온당화현상에 의한 감자전분의 손실(Kaur et al., 2009)을 최소화하면서 높은 수율의 감자유세포를 얻을 수 있을 것으로 판단된다.

한편 냉동감자조직으로부터 감자유세포의 분리수율은 반응온도가 30°C에서 50°C로 상승하면서 25.4%에서 58.1%로 상승하였고(Table 1-Set II), 이 결과는 pectin lyase와 polygalacturonase의 효소반응 최적온도가 50°C 부근에서 형성되기 때문으로 생각된다(Tomlin et al., 2013). 반응시간은 1시간에서 2시간으로 길어지면서 감자유세포 분리수율이 28.0%에서 60.7%까지 급격히 증가하였으나 3시간까지 연장하였을 때는 58.4%로 2시간 반응하였을 때와 유의적인 차이를 보이지 않았다(Table 1-Set III). 반응 pH는 2.5에서 5.5로 증가하면서 감자유세포 분리수율이 61.6%에서 0.4%로 감소하였다(Table 1-Set IV). 펙틴 가수분해효소들의 생산자 자료에 의하면 본 연구에서 사용한 상업적 펙틴 가수분해효소들(Novozym 33095, Pectinex Ultra SP-L)은 *Aspergillus aculeatus*로부터 생산되어 셀룰로오스 가수분해효소들을 함유하고 있다. 따라서 감자조직에 대한 효소반응 시 셀룰로오스 가수분해효소들의 과도한 활성화는 유세포막을 손상시켜 유세포의 분리수율을 저하시킬 수 있다. *A. aculeatus*

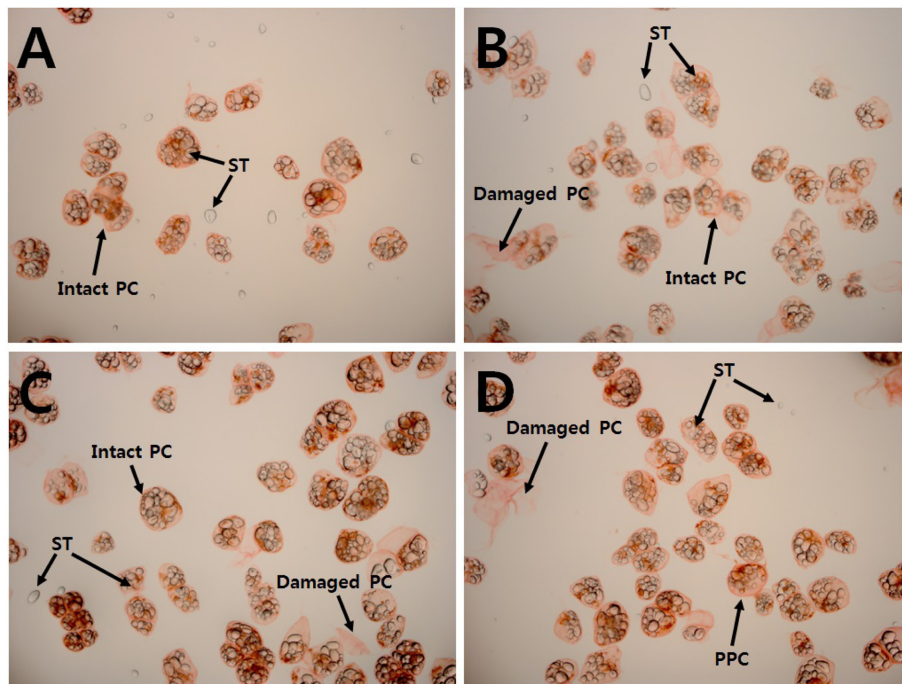


Fig. 1. Light microscope images of dehydrated potato parenchyma cells prepared at different dilution of enzyme solution. PC: potato parenchyma cells, ST: potato starch; A: 50 times dilution, B: 100 times dilution, C: 200 times dilution, D: 400 times dilution.

유래 셀룰로오스 가수분해효소의 최적 pH는 5.0인 반면에 (Naika et al., 2007) 펙틴 가수분해효소들의 최적 pH는 3.5이다(Tomlin et al., 2013). 결과적으로 감자유세포 분리수율이 pH 2.5에서 가장 높은 것은 높은 것은 셀룰로오스 가수분해효소들의 활성이 제한되었기 때문인 것 같다.

상업적 펙틴 가수분해효소들은 탈이온수를 이용하여 50-400배로 희석하여 효소반응완충용액 350 mL당 1 mL를 가하여 감자유세포 분리수율과 형태학적 특성에 대한 효소사용량의 영향을 조사하였다(Table 1-Set V; Fig. 1). 펙틴 가수분해효소의 희석배수가 50배에서 200배로 증가하면서(효소량이 감소하면서) 감자유세포의 분리수율은 증가하였으나 400배로 희석하여 사용한 경우 분리수율은 감소하였다. 각 조건에서 분리하여 제조된 건조감자유세포를 재수화하여 광학현미경으로 관찰하였을 때 50배(Fig. 1A)와 100배(Fig. 1B)로 희석한 펙틴 가수분해효소 처리군들은 자유로운 감자전분들이 높은 빈도로 관찰되었으나 200배(Fig. 1C)와 400배(Fig. 1D)의 경우 극히 낮은 빈도로 존재하였다. 이와 같은 결과는 펙틴 가수분해효소를 50배와 100배로 희석한 경우 셀룰로오스 가수분해효소들의 활성을 제한할 수 있는 낮은 pH 조건이라 하더라도 200배와 400배로 희석한 경우에 비해 상대적으로 높은 수준의 셀룰로오스 가수분해효소들이 희석된 효소액 내에 존재하게 되고 감자조직의 효소반응 동안 유세포막을 손상시켜 감자전분이 유세포 외부로 유출되어 손상된 유세포들과 함께 감자유세포 회수과정에서 손실되었기 때문으로 생각된다.

펙틴 가수분해효소 종류에 대한 영향은 pectin lyase와 polygalacturonase를 이용하여 조사되었다(Table 1-Set VI). Pectin lyase와 polygalacturonase 처리군들이 각각 61.4%와 54.6%의 높은 수준의 감자유세포 분리수율을 나타내었으며 pectin lyase가 감자유세포의 분리에 좀더 효과적이었다. 효소반응 완충용액과 감자조직의 혼합비율의 영향을 조사하였을 때 효소반응 완충용액 350 mL에 감자조직 75 g을 가하는 것이 가장 높은 감자유세포 분리수율을 얻었다(Table 1-Set VII). 마지막으로 펙틴 가수분해효소를 이용하여 감자조직으로부터 유세포의 분리가 펙틴 가수분해효소의 영향인지 pH 2.5의 구연산 완충용액과 50°C의 반응온도 때문에 유세포들 사이의 펙틴성 물질들의 유동성 증가로 기계적인 교반에 의해 유세포들이 물리적으로 탈착하는 것인지를 판단하기 위해 펙틴 가수분해효소를 제외한 최적반응조건 하에서 감자조직을 처리하였고, 0.1%의 감자유세포 분리수율을 얻었다(Table 1-Set VIII). 따라서 본 연구에서 감자조직으로부터 유세포의 분리는 펙틴 가수분해효소들의 역할 때문인 것으로 확인되었다. 이상의 결과를 종합하면, 건조감자유세포 소재를 제조하기 위해 감자조직으로부터 유세포의 최적분리조건은 냉동감자조직을 원료로 하여 냉동감자조직 75 g과 100 mM 구연산 완충용액(pH 2.5) 350 mL의 비율로 혼합하고 200배 희석된 펙틴 가수분해효소(pectin lyase가 주요 구성효소) 용액을 1 mL 가하여 50°C에서 2시간 동안 기계적으로 교반하는 것이었다.

감자유세포의 최적 분리조건 하에서 국내산 18품종의 일

Table 2. Effects of potato cultivars on the yields of dehydrated potato parenchyma cells from frozen whole-tissues of potatoes

Category	Potato cultivar	Yield (% , d.b) ¹⁾
General potato	Atlantic	51.8±0.2 ^{abc}
	Bangul	51.5±1.0 ^{abcd}
	Chuback	54.0±4.2 ^{ab}
	Chudong	54.7±3.9 ^{ab}
	Chugang	53.2±0.2 ^{ab}
	Chuyoung	55.8±2.0 ^{ab}
	Dejima	61.7±3.3 ^a
	Gahwang	27.9±2.7 ^{ghi}
	Gawon	54.0±2.9 ^{ab}
	Goun	50.3±0.5 ^{bcd}
	Irish Cobbler	53.1±2.4 ^{ab}
	Jopung	41.1±2.1 ^{cdef}
	Jowon	54.0±1.4 ^{ab}
	Namseo	51.2±0.4 ^{abcd}
	Sebong	26.0±2.8 ^{hi}
	Shepody	37.0±1.1 ^{efg}
Sinnamjak	31.4±3.7 ^{ghi}	
Superior	50.7±2.2 ^{bcd}	
Colored potato	Haryeong	47.0±2.2 ^{bcd}
	Hongyoung	40.9±3.1 ^{def}
	Jaseo	4.3±1.1 ^j
	Jasim	7.8±5.6 ^j
	Jayoung	35.8±2.5 ^{ghi}
	Seohong	21.3±3.7 ⁱ

¹⁾Mean value of three measurements; values sharing the same lowercase letter within a column are not significantly different ($p<0.05$).

반감자와 6품종의 유색감자로부터 유세포를 분리하여 건조 감자유세포 소재의 수율을 조사하였다(Table 2). 일반감자로부터 분리하여 제조한 건조감자유세포의 수율은 26.0-61.7%의 범위에 있었으며, 50% 이상의 수율을 기준으로 할 때, 고운, 수미, 남서, 방울, 대서, 남작, 추강, 추백, 조원, 가윈, 추동, 추영, 대지 품종의 감자들 순으로 수율이 증가하였다. 게다가 감자유세포의 분리 후 회수가 가능한 총 고형물(감자유세포와 감자조직 잔류물)의 건조중량을 기준으로 감자유세포의 회수율을 계산하였을 때, 회수율 75% 이상을 얻은 감자품종은 추백, 추동, 추영, 대지, 조원이었다. 한편 유색감자의 경우 건조감자유세포의 수율이 50%이상인 품종은 발견되지 않았고, 하령감자가 47%로 가장 높았으며 자서감자가 4.3%로 가장 낮았다. 이상의 결과를 종합할 때, 건조감자유세포 소재의 원료로는 대지, 추백, 추동, 추영, 조원 품종의 일반감자가 적합한 것으로 판단된다.

감자로부터 유세포 분리수율에 대한 감자 특성의 영향

감자의 성분학적 특성과 조직경도를 조사하고 건조감자유세포 수율과의 상관분석을 통해 감자로부터 펙틴 가수분

Table 3. Total solid content and hardness of raw tissues of potatoes

Category	Potato cultivar	Total solid content ¹⁾ (% , d.b)	Hardness ¹⁾ (kN/m ²)
General potato	Atlantic	22.4±2.8 ^{ab}	312.7±5.3 ^{fghijk}
	Bangul	19.8±1.0 ^{abcd}	278.2±10.4 ^l
	Chuback	16.7±0.8 ^{cde}	310.3±6.6 ^{fghijk}
	Chudong	17.7±0.7 ^{bcd}	288.8±9.3 ^{kl}
	Chugang	21.8±0.5 ^{ab}	315.1±15.2 ^{fghijk}
	Chuyoung	19.0±1.2 ^{abcde}	303.5±5.0 ^{ghijkl}
	Dejima	22.9±0.2 ^a	287.6±6.4 ^{kl}
	Gahwang	16.8±0.7 ^{cde}	339.9±20.1 ^{defghi}
	Gawon	18.6±0.6 ^{abcde}	310.3±32.2 ^{ijk}
	Goun	22.7±0.2 ^a	336.5±9.2 ^{defghi}
	Irish cobbler	19.3±0.4 ^{abcde}	307.6±17.0 ^{hijk}
	Jopung	14.8±0.1 ^e	323.6±12.2 ^{efghij}
	Jowon	16.0±0.4 ^{de}	293.3±2.6 ^{ijkl}
	Namseo	18.6±0.8 ^{abcde}	298.2±5.9 ^{ijkl}
	Sebong	18.6±0.6 ^{abcde}	401.7±16.4 ^{abc}
	Shepody	23.0±1.1 ^a	345.5±12.7 ^{de}
Sinnamjak	16.9±0.2 ^{cde}	407.2±9.7 ^{ab}	
Superior	20.6±1.6 ^{abcd}	323.6±3.0 ^{efghij}	
Colored potato	Haryeong	20.8±1.4 ^{abc}	340.2±4.1 ^{defghi}
	Hongyoung	19.1±0.5 ^{abcde}	325.4±6.5 ^{efghij}
	Jaseo	16.9±0.2 ^{cde}	427.7±2.4 ^a
	Jasim	21.2±1.2 ^{abc}	393.6±8.2 ^{abc}
	Jayoung	21.6±3.2 ^{ab}	378.7±9.5 ^{bc}
	Seohong	17.9±0.5 ^{bcd}	369.8±0.8 ^{cd}

¹⁾Mean value of three measurements; values sharing the same lowercase letter within a column are not significantly different ($p<0.05$).

해효소 처리에 의해 제조된 건조감자유세포의 수율에 영향을 미치는 감자의 특성 인자를 탐색하였다. 박피한 생감자의 총 고형분 함량은 14.8-23.0%의 범위에 있었으며 세품 감자가 23.0%로 가장 높았으며 조풍감자가 14.8%로 가장 낮았다(Table 3). 이와 같은 결과는 20품종의 국내산 감자의 총 고형분 함량을 조사한 Lee et al. (2012)의 결과와 유사하였다. 생감자의 총 고형분 함량은 건조감자유세포의 수율 사이의 유의적인 상관성 나타내지 않았다($p>0.05$; Table 5). 생감자의 조직경도는 278.2-427.7 kN/m²의 범위에 있었으며 방울감자가 가장 낮았으며 자서감자가 가장 높은 수준을 나타내었다(Table 3). 생감자의 조직경도는 건조감자유세포의 수율과 음의 상관관계($r=-0.888$, $p<0.01$)를 나타내었다(Table 5). Borodoli et al. (2012)는 감자조직 내의 유세포들이 치밀하게 압착된 형태로 배열되어 있는 감자가 느슨하게 배열되어 있는 것보다 높은 부서짐성(fracturability)와 경도(hardness)를 나타낸다고 하였다. 따라서 감자조직의 조직경도가 높은 감자일수록 감자조직 내의 유세포들이 치밀하게 압착되어 있을 것으로 생각되며 이로 인해 유세포의 세포벽과 인접하는 유세포의 세포벽 사이에

Table 4. Chemical compositions¹⁾ of flours prepared from potatoes

Category	Potato cultivar	Protein (% , d.b)	Lipid (% , d.b)	Ash (% , d.b)	TC ²⁾ (% , d.b)	TS ²⁾ (% , d.b)	NSP ²⁾ (% , d.b)	Pectins (% , d.b)
General potato	Atlantic	9.3±0.0 ^{abcde}	0.2±0.2 ^{cd}	4.2±0.1 ^{ede}	86.3±0.1 ^{abcdef}	70.2±0.2 ^{bcd}	16.1±0.3 ^{bcde}	2.1±0.2 ^{hi}
	Bangul	8.9±0.7 ^{bcde}	0.6±0.1 ^{abcd}	3.8±0.1 ^{fgh}	86.7±0.5 ^{abcd}	71.1±0.7 ^{abc}	15.6±0.3 ^{cde}	2.5±0.3 ^{fghi}
	Chuback	10.0±0.7 ^{abcde}	0.7±0.1 ^{abcd}	4.7±0.0 ^{ab}	84.7±0.7 ^{cdef}	66.9±2.5 ^{defghij}	17.8±3.3 ^{abcde}	6.8±0.2 ^{bc}
	Chudong	11.9±0.6 ^a	0.4±0.1 ^{abcd}	4.1±0.1 ^{ef}	83.6±0.7 ^f	68.9±0.3 ^{bcdef}	14.6±1.0 ^{de}	3.3±0.1 ^{fg}
	Chugang	8.4±0.0 ^{de}	0.5±0.0 ^{abcd}	4.2±0.0 ^{ede}	86.9±0.0 ^{abc}	68.0±0.3 ^{bcdefgh}	18.9±0.3 ^{abcde}	8.8±0.2 ^a
	Chuyoung	11.4±0.0 ^{ab}	0.3±0.1 ^{bcd}	4.2±0.0 ^{ede}	84.2±0.1 ^{cdef}	66.2±0.1 ^{efghijk}	18.0±0.1 ^{abcde}	3.5±0.2 ^f
	Dejima	8.4±0.0 ^{de}	0.7±0.1 ^{abcd}	4.4±0.1 ^{abcde}	86.5±0.2 ^{abcde}	69.7±0.8 ^{bcde}	16.8±0.6 ^{abcde}	4.8±0.2 ^e
	Gahwang	9.8±0.6 ^{abcde}	0.2±0.0 ^{bcd}	4.2±0.1 ^{ede}	85.8±0.7 ^{abcdef}	67.6±1.7 ^{defghi}	18.2±2.5 ^{abcde}	7.2±0.1 ^b
	Gawon	9.9±0.7 ^{abcde}	0.8±0.5 ^{abc}	4.4±0.0 ^{bcd}	84.9±0.1 ^{bcd}	68.2±0.1 ^{bcd}	16.7±0.2 ^{abcde}	4.9±0.4 ^{de}
	Goun	8.4±0.0 ^{de}	0.3±0.1 ^{bcd}	3.5±0.0 ^h	87.8±0.0 ^{ab}	73.8±0.3 ^a	14.0±0.3 ^e	2.0±0.4 ⁱ
	Irish cobbler	8.9±0.6 ^{bcde}	0.7±0.3 ^{abcd}	4.1±0.1 ^{efg}	86.4±0.3 ^{abc}	68.1±0.2 ^{bcd}	18.2±0.0 ^{abcde}	6.8±0.4 ^{bc}
	Jopung	10.3±1.3 ^{abcd}	0.4±0.2 ^{abcd}	4.6±0.0 ^{ab}	84.6±1.1 ^{cdef}	65.3±0.0 ^{ghijk}	19.3±1.1 ^{abcd}	5.9±0.5 ^{cd}
	Jowon	8.9±0.7 ^{bcde}	0.3±0.1 ^{bcd}	4.1±0.1 ^{def}	86.7±0.8 ^{abcd}	66.2±0.1 ^{efghijk}	20.5±0.7 ^{abc}	5.8±0.0 ^{de}
	Namseo	10.7±0.0 ^{abcd}	0.8±0.1 ^{ab}	4.7±0.0 ^{ab}	83.8±0.1 ^{def}	63.0±1.4 ^k	20.8±1.3 ^{ab}	3.4±0.3 ^f
	Sebong	8.5±0.0 ^{cde}	0.9±0.1 ^a	4.4±0.0 ^{abcde}	86.1±0.0 ^{abcde}	69.0±0.3 ^{bcdef}	17.1±0.3 ^{abcde}	2.4±0.0 ^{fghi}
Shepody	9.9±0.6 ^{abcde}	0.7±0.2 ^{abcd}	4.2±0.1 ^{ede}	85.2±1.0 ^{bcd}	65.9±1.5 ^{efghijk}	19.3±2.5 ^{abcd}	2.1±0.3 ^{hi}	
Sinnamjak	9.5±0.0 ^{abcde}	0.6±0.1 ^{abcd}	4.4±0.0 ^{bcd}	85.5±0.1 ^{bcd}	68.6±0.8 ^{bcdefg}	16.9±0.7 ^{abcde}	2.9±0.1 ^{fghi}	
Superior	11.1±1.1 ^{abcd}	0.6±0.1 ^{abcd}	3.7±0.0 ^{gh}	84.6±1.2 ^{cdef}	68.1±0.4 ^{bcd}	16.5±1.6 ^{abcde}	3.2±0.1 ^{fgh}	
Colored potato	Haryeong	7.5±0.0 ^e	0.2±0.0 ^{bcd}	3.7±0.0 ^{gh}	88.5±0.0 ^a	71.4±0.4 ^{ab}	17.1±0.4 ^{abcde}	2.5±0.0 ^{fghi}
	Hongyoung	10.7±0.6 ^{abcd}	0.3±0.1 ^{bcd}	4.5±0.1 ^{abcd}	84.6±0.8 ^{cdef}	63.9±0.3 ^{jk}	20.6±0.5 ^{abc}	6.4±0.2 ^{bc}
	Jaseo	10.9±1.5 ^{abcd}	0.6±0.0 ^{abcd}	3.5±0.4 ^h	85.0±1.9 ^{bcd}	66.9±0.5 ^{defghij}	18.1±1.3 ^{abcde}	5.1±0.3 ^{de}
	Jasim	9.0±0.6 ^{bcde}	0.3±0.1 ^{bcd}	4.6±0.1 ^{ab}	86.1±0.7 ^{abcde}	64.8±1.0 ^{hijk}	21.3±1.7 ^a	5.0±0.0 ^{de}
	Jayoung	8.5±1.3 ^{de}	0.1±0.0 ^d	4.8±0.1 ^a	86.6±1.4 ^{abcd}	68.1±0.2 ^{bcd}	18.5±1.2 ^{abcde}	3.1±0.6 ^{fgh}
	Seohong	11.3±0.0 ^{abc}	0.6±0.1 ^{abcd}	4.5±0.0 ^{abc}	83.6±0.1 ^{ef}	64.3±0.5 ^{ijk}	19.3±0.6 ^{abcd}	2.2±0.0 ^{ghi}

¹⁾Mean value of three measurements; values sharing the same lowercase letter within a column are not significantly different ($p < 0.05$).

²⁾TC: total carbohydrate content, TS: total starch content, NSP: non-starch polysaccharide.

Table 5. Pearson's correlation coefficients among the yields of potato parenchyma cells, the total solid contents and hardness of potato whole-tissue, and the chemical compositions of potato flours

Variables	PCC ¹⁾	TSC ¹⁾	Hardness	Protein	Lipid	Ash	TC ¹⁾	TS ¹⁾	NSP ¹⁾
TSC	0.173								
Hardness	-0.888**	-0.084							
Protein	-0.088	-0.331*	-0.064						
Lipid	0.046	-0.149	0.014	0.105					
Ash	-0.074	-0.167	0.048	0.117	0.094				
TC	0.090	0.367**	0.041	-0.944**	-0.299	-0.388**			
TS	0.317*	0.381**	-0.106	-0.474**	-0.112	-0.580**	0.598**		
NSP	-0.334*	-0.228	0.170	-0.043	-0.062	0.461**	-0.073	-0.843**	
Pectin	0.038	-0.308	-0.188	-0.041	-0.015	0.204	-0.015	-0.033*	0.374**

** $p < 0.01$, * $p < 0.05$

¹⁾PCC: potato parenchyma cell yield, TSC: total solid content, TC: total carbohydrate content, TS: total starch content, NSP: non-starch polysaccharide.

존재하는 펙틴성 물질에 대한 펙틴 가수분해효소의 접근이 용이하지 않아 감자유세포의 분리수율이 낮아지는 것으로 판단된다.

24품종 감자들의 조단백질 함량은 7.5-11.9%, 조지방 함량은 0.1-0.9%, 조회분 함량은 3.5-4.7%, 총 탄수화물 함량은 83.6-88.5%의 범위에 있었다(Table 4). 본 연구에서 분석된 감자들의 일반성분들의 함량은 국내산 감자들의 영양

성분을 보고한 Lee et al. (2012)와 Kim et al. (2013)의 결과와 유사하였다. 그러나 감자의 일반성분들과 감자유세포 수율 사이에 유의적인 상관성은 관찰되지 않았다(Table 5). 이는 조단백질, 조지방, 조회분들이 감자전분과 함께 유세포 내부에 존재하기 때문에(Borodoli et al., 2012) 유세포의 세포막 외부의 펙틴성 물질의 제거를 통해 손상되지 않은 유세포를 분리하는 본 연구에 있어 영향을 미치지 않는

것으로 생각된다.

24품종 감자들의 총 전분 함량은 64.3~73.8%의 범위에 있었으며, 서홍감자가 가장 적었고 가원감자가 가장 높았다(Table 4). 감자의 총 전분 함량과 건조감자유세포의 수율 사이에는 양의 상관성($r=0.317$, $p<0.05$)이 존재하였다(Table 5). Borodoli et al. (2012)는 감자의 경도와 감자전분 함량 사이에 양의 상관성이 존재한다고 하였다. 그러나 본 연구에서 감자전분 함량과 조직경도 사이에는 상관성이 관찰되지 않았다(Table 5). 또한 Borodoli et al. (2012)는 유세포가 느슨하게 배열된 감자들 내에서 감자전분 함량의 증가는 감자조직의 경도를 증가시킨다고 보고하였다. 따라서 감자전분 함량은 유세포들 사이의 긴밀한 밀착에 부분적으로 공헌하여 펙틴 가수분해효소들의 유세포 세포벽 사이의 펙틴성 물질에 대한 접근을 용이하지 않게 할 수는 있을 것으로 판단된다. 그러나 감자조직의 건조중량에 대한 유세포의 건조중량의 비율에 의해 수율을 계산하는 본 연구에 있어 감자전분은 유세포 내에 존재하기 때문에 (Shin et al., 2015) 유세포의 건조중량을 증가시키는 중량제로서 역할을 하는 것으로 생각된다.

감자들의 비전분성 탄수화물고분자 함량은 14.0-21.3%의 범위를 나타내었다(Table 4). 비전분성 탄수화물고분자 함량과 건조감자유세포의 수율 사이에는 음의 상관성($r=-0.334$, $p<0.05$)이 존재하였다(Table 5). 비전분성 탄수화물고분자 함량은 총 탄수화물 함량에서 총 전분 함량을 차감하여 계산하기 때문에 비전분성 탄수화물고분자 함량과 총 전분 함량은 역의 관계를 가지고 있다. 따라서 본 연구에서 비전분성 탄수화물고분자 함량과 건조감자유세포 수율의 상관성은 총 전분 함량과 건조감자유세포 수율의 상관성이 존재하기 때문인 것으로 판단된다. 한편 감자의 비전분성 탄수화물고분자 중 펙틴 함량은 건조감자유세포의 수율과 높은 상관성이 있을 것으로 예상하였으나 본 연구에서는 펙틴 함량과 건조감자유세포의 수율 사이에 유의적인 상관성이 관찰되지 않았다(Table 5). 결과적으로 감자의 펙틴 함량은 펙틴 가수분해효소를 이용하여 감자조직으로부터 유세포를 분리하는데 있어 큰 영향을 미치지 않는 것 같다.

요 약

새로운 형태의 건조감자소재를 개발하기 위해 감자조직을 구성하고 있으며 감자전분들을 다양한 정도로 함유하고 있는 유세포를 펙틴 가수분해효소를 이용하여 개별적으로 분리할 수 있고, 최대 분리수율을 얻을 수 있는 최적의 유세포 분리조건을 탐색하였다. 감자조직은 동결하여 -18°C 에서 저장하면서 해동하여 유세포 분리를 위한 원료로 사용하는 것이 생 감자조직을 사용하는 것 보다 2배 이상의 감자유세포를 얻을 수 있었다. 펙틴 가수분해효소는 pectin lyase를 주요 구성효소로 하는 펙틴 가수분해효소 용액을

탈이온수로 200배 희석하여 pH 2.5의 효소반응용액 350 mL 당 1 mL를 가하여 50°C 에서 2시간 동안 100 rpm으로 기계적으로 교반할 때 가장 높은 수율의 건조감자유세포 소재를 얻을 수 있었다. 유색감자보다는 일반감자들 중 추백, 추동, 추영, 조원, 대지 품종들이 건조감자유세포 소재의 제조를 위한 원료로 적합하였으며, 이 중 대지감자를 사용할 때 가장 높은 수율의 건조감자유세포를 얻을 수 있었다. 감자의 총 전분 함량, 비전분성 탄수화물고분자 함량과 생감자의 조직경도가 감자조직으로부터 유세포의 분리수율에 유의적인 영향을 미쳤다. 따라서 품종을 알 수 없는 감자가 건조감자유세포 소재의 원료로 적합한지를 판단할 때 이 감자의 조직경도와 총 전분 함량의 측정을 통해 결정할 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글

본 논문은 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호: PJ009786)의 지원에 의해 이루어진 결과의 일부이며 이에 감사 드립니다.

참고문헌

- AACC. 2010. Approved methods of the AACC. 10th ed: American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN, USA.
- Anantachote A. 2009. Chemical-assisted separation and characterization of parenchyma cells from potatoes (*Solanum tuberosum*). MS thesis, Univ. of Idaho, Moscow, ID, USA.
- AOAC. 2000. Official method of analysis. 17th ed: AOAC International, Gaithersburg, MD, USA.
- Bordoloi A, Kaur L, Singh J. 2012. Parenchyma cell microstructure and textural characteristics of raw and cooked potatoes. Food Chem. 133: 1092-1100.
- Chun IJ, Kim HS. 2014. Influence of starch characteristics on the pasting properties of potato flours prepared from yellow-fleshed potatoes. Food Eng. Prog. 18: 398-405.
- Ek KL, Brand-Miller J, Copeland L. 2012. Glycemic effect of potatoes. Food Chem. 133: 1230-1240.
- Jang MY, Jo YJ, Hwang IG, Yoo SM, Choi MJ, Min SG. 2014. Physicochemical characterization and changes in nutritional composition of onions depending on type of freezing process. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 43: 1055-1061.
- Kaur A, Singh N, Ezekiel R, Sodhi NS. 2009. Properties of starches separated from potatoes stored under different conditions. Food Chem. 114: 1396-1404.
- Kim EJ, Kim HS. 2015a. Influence of pectinase treatment on the physicochemical properties of potato flours. Food Chem. 167: 425-432.
- Kim EJ, Kim HS. 2015b. Physicochemical properties of dehydrated potato parenchyma cells with ungelatinized and gelatinized starches. Carbohydr. Polym. 117: 845-852.
- Kim KM, Jung SY, Kim JS, Kim GC, Jang YE, Kwon OK. 2013. Nutrient components and physicochemical properties of 23 Korean potato cultivars. Food Eng. Prog. 17: 346-354.

- Lee YJ, Jeong JC, Yoon YH, Hong SY, Kim SJ, Jin YI, Nam JH, Kwon OK. 2012. Evaluation of quality characteristics and definition of utilization category in Korean potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars. *J. Crop Sci.* 57: 271-279.
- Naika GS, Kaul P, Prakash V. 2007. Purification and characterization of a new endoglucanase from *Aspergillus aculeatus*. *J. Agr. Food Chem.* 55: 7566-7572.
- Nurdjanah S, Hook J, Paton J, Paterson J. 2013. Galacturonic acid content and degree of esterification of pectin from sweet potato starch residue detected using ^{13}C CP/MAS solid state NMR. *Eur. J. Food Res. Rev.* 3: 16-37.
- Park SJ, Song KB. 2015. Quality changes in the lotus root frozen under different conditions. *Korean J. Food Preserv.* 22: 44-50.
- Shin EH, Baik MY, Kim HS. 2015. Comparison of physicochemical properties of starches and parenchyma cells isolated from potatoes cultivated in Korea. *Food Sci. Biotechnol.* 24: 955-963.
- Taylor KA, Buchanan-Smith JG. 1992. A colorimetric method for the quantitation of uronic acids and a specific assay for galacturonic acid. *Anal. Biochem.* 201: 190-196.
- Tomlin BD, Jones SE, Reyes-De-Corcuera JI. 2013. High hydrostatic pressure protection of a pectinase cocktail against thermal inactivation. *J. Food Eng.* 116: 674-680.