

## 펙틴 분해효소를 이용한 김치 조직의 연화 방지

백형희 · 이창희 · 우덕현 · 박관화 · 백운화\* · 이규순\*\* · 남상봉\*\*

서울대학교 식품공학과, \*두산 연구소, \*\*해태 연구소

## Prevention of Pectinolytic Softening of Kimchi Tissue

Hyung-Hee Baek, Chang-Hee Lee, Duk-Hyun Woo, Kwan-Hwa Park,  
Un-Hwa Pek\*, Kyu-Soon Lee\*\* and Sang-Bong Nam\*\*

Department of Food Science and Technology Seoul National University, Suwon, Korea  
\*Doosan Research Laboratory, \*\*Haitai Food Research Institute

### Abstract

Polygalacturonase(PG) and pectinesterase(PE) were extracted from Chinese cabbage and physicochemical properties of the enzymes were characterized. The preheating conditions for maximum retention of Kimchi texture were also studied. The activity of PE was highest at 50°C and at 0.02M CaCl<sub>2</sub> but decreased in 0.2M CaCl<sub>2</sub>. PG exhibited maximum activity at 65°C with 0.3mM CaCl<sub>2</sub> but was inhibited by CaCl<sub>2</sub> at 0.5mM. Both of the enzymes, however, exhibited the maximum activity with 0.25M NaCl. Optimum preheating treatment was determined for minimum PG activity and maximum PE activity. Thus a maximum crispness and firmness was obtained with preheating in 0.05M CaCl<sub>2</sub> solution at 50°C for 1.5hr. The results indicated that PE activity and calcium ion were very effective in preserving firmness.

Key words: pectinolytic softening, Kimchi, pectinesterase, polygalacturonase, preheating

### 서 론

우리나라의 대표적인 고유식품인 김치는 산패와 연화 현상 때문에 장기 저장에 많은 어려움이 있다. 이러한 문제를 해결하기 위한 많은 연구<sup>(1-6)</sup>가 진행되어 왔으나 아직까지 효과적인 장기 저장방법이 실용화 되지 못하고 있는 실정이다.

김치조직의 연화 현상은 식물세포벽 구성물질인 펙틴질의 분해에 기인하며 이에 관여하는 효소로는 펙틴에스테라제(pectinesterase; PE)와 폴리갈락투로나제(polygalacturonase; PG)가 있는데 PG의 작용을 억제하고 PE를 활성화 시켜 펙틴이 칼슘이온과 cross-linkage를 형성하게 하여 주면 조직의 연화를 방지할 수 있다<sup>(9-15)</sup>. 이와 같은 원리를 이용하여 육 등<sup>(16)</sup>은 무우김치의 연화를 방지할 수 있었고 백<sup>(17)</sup>은 오이지의 연화방지에 관하여 연구하였으나 배추김치의 연화방지에 관한 연구는 아직 미흡한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 배추김치의 연화를 방지하고자 배추내에 존재하는 PE와 PG의 특성을 살펴보고 배추

의 최적 예비 열처리 조건을 구하였다.

### 재료 및 방법

#### 재료

배추와 양념은 시중에서 구입하였으며 pectin은 Chin Wha Pharm. Co. 제품, polygalacturonic acid는 Sigma 제품을 구입하여 사용하였다.

#### 예비 열처리

배추의 줄기와 잎사귀 부위를 각각 이등분씩 사등분하여 일정 부위에서 시료를 채취한 후 증류수 또는 CaCl<sub>2</sub>의 농도를 달리한 용액이 담긴 비이커에 넣고 항온수조에서 열처리하였다.

#### 경도측정

경도는 Instron UTM(Model 1000)을 사용하여 plunger diameter 0.93cm, crosshead speed 100 mm/min, chart speed 200mm/min로 하였고 force range는 줄기의 경우 10kg, 잎사귀의 경우는 1kg으로 하였다. 경도는 초기 기울기로 표시했으며 시료를 5개씩 채취해 일맥이 튀어나와 있지 않은 부분에 대해 pun-

cture test 를 하여 평균값을 측정값으로 하였다<sup>(18)</sup>.

**펙틴에스테라제의 분리**

고 등<sup>(19)</sup>의 방법에 따라 효소를 추출하였다. 잘게 썬 배추에 같은 부피의 0.1M phosphate 완충용액(pH 8.0)을 넣고 마쇄기(Waring blender, Eberbach, s/p 8355-1)로 20-30초 동안 마쇄한 후 24시간 침출시켰다. 이것을 cheese cloth로 짰 후 9,000 x g에서 15분간 원심분리하여 황산암모늄으로 70%까지 포화시킨 뒤 4°C에서 하룻밤 방치한 후 원심분리하여 얻은 침전물을 증류수로 녹여 0.01M phosphate 완충용액(pH 7.5)에서 24시간 투석시켰다. 원심분리하여 불용성 고형분을 제거한 다음 상등액을 효소액으로 사용하였다.

**폴리갈락투로나제의 분리**

폴리갈락투로나제는 Tucker 등<sup>(20)</sup>의 방법에 따라 추출하였다. 잘게 썬 배추에 같은 부피의 1M NaCl 용액을 넣고 30초 동안 마쇄기에서 마쇄한 후 0.1N NaOH 용액으로 pH를 6.0으로 조정하여 4°C에서 24시간 동안 침출시켰다. 이것을 cheese cloth로 짰 후 원심분리하여 황산암모늄으로 75%까지 포화시킨 뒤 4°C에서 하룻밤 동안 방치한 후 13,000 x g에서 20분 원심분리하여 얻은 침전물을 pH 5.0인 0.01M acetate 완충용액에 녹여 같은 완충용액에서 투석시켰다. 원심분리하여 불용성 고형분을 제거한 다음 상등액을 효소액으로 사용하였다.

**펙틴에스테라제 역가 측정**

0.15M NaCl을 함유한 0.45% pectin 용액 50ml를 pH 7.0으로 조정 한 후 0.2ml의 효소액을 첨가한 다음 30°C로 유지시키면서 5분 동안 생성된 산을 0.02N NaOH로 적정하였다. 1 unit는 1분 동안에  $2 \times 10^{-5}$  mole의 유리카르복실기를 생성하는 효소의 양으로 하였다<sup>(19)</sup>.

**폴리갈락투로나제 역가 측정**

0.1M NaCl을 함유한 0.03M acetate 완충용액(pH 5.0)에 녹인 0.45% polygalacturonic acid 5ml에 1ml의 효소액을 가하고 30°C에서 3시간 동안 반응시켰다. 2N HCl 0.9ml를 가하여 반응을 중지시키고 2,500 x g에서 8분 동안 원심분리하여 상등액을 취한 다음 Somogyi Nelson 방법으로 환원당을 정량하였다<sup>(21)</sup>. 즉 상등액 0.5ml, 증류수 0.5ml, 0.1N NaOH 1ml를 가하여 20분간 끓인 다음 상온으로 식혀서 arsenomo-

lybdated color reagent 1ml를 넣고 4ml의 증류수로 희석하여 520nm에서 흡광도를 측정하였다. blank는 2N HCl 용액 0.9ml를 가하여 반응을 중지시킨 후 효소액을 넣은 다음 같은 방법으로 행하였다. 표준 곡선은  $\alpha$ -D-galacturonic acid를 사용하여 작성하였으며 PG 1 unit는 시간당 생성된  $1 \times 10^{-5}$  mole의 환원당 양으로 하였다.

**김치제조**

배추를 50°C의 0.05M CaCl<sub>2</sub> 용액에서 1시간 30분 동안 예비 열처리 한 후 수도물로 씻어서 상법으로 김치를 제조하였으며 절인 후 배추의 염농도가 3% 되게 하였고 대조구는 열처리하지 않은 배추로 제조하였다.

**결과 및 고찰**

**배추 PE와 PG의 특성**

pH가 배추 PE와 PG에 미치는 영향은 Fig. 1에서와 같다. PE는 pH 8.0에서 PG는 pH 5.2에서 최대 역가를 나타내었으며 PG는 pH 7 이상에서는 전혀 작용하지 않았다. 한편 김치는 숙성중에 pH가 5.6에서 4.0 정도까지 변화하는데 배추 PG가 이 범위에서 상당한 역가를 나타내므로 숙성과정과 저장중에 PG의 작용이 클 것으로 생각된다.

NaCl에 의한 영향은 Fig. 2에서 보는 바와 같이 PE는 0.25M에서, PG는 0.3M에서 최대 역가를 나타내었다. CaCl<sub>2</sub>에 의한 영향은 Fig. 3에서 보는 바와 같이

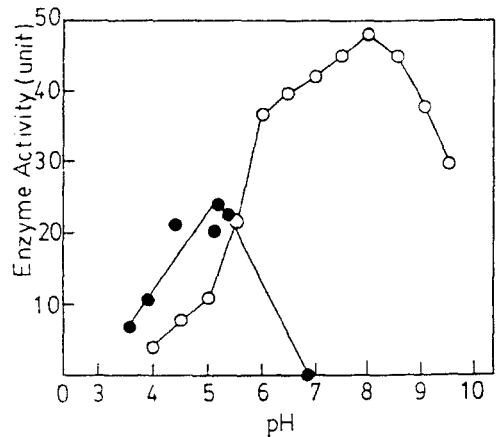


Fig. 1. Effect of pH on the activity of pectinesterase( $\circ$ - -  $\circ$ ) and polygalacturonase( $\bullet$ - -  $\bullet$ ).

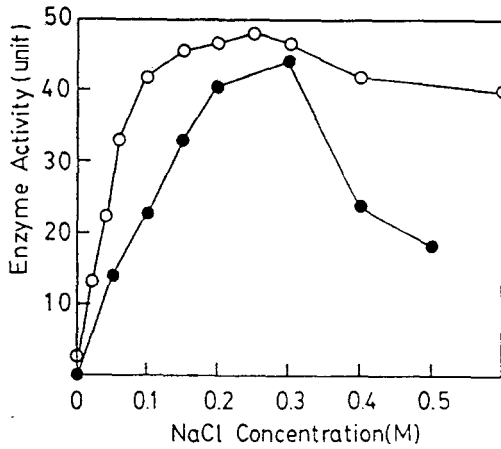


Fig. 2. Effect of NaCl on the activity of pectinesterase(x100 unit: ○—○) and polygalacturonase(●—●).

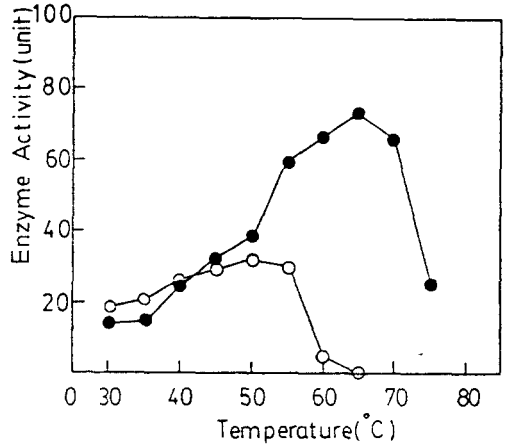


Fig. 4. Effect of temperature on the activity of pectinesterase(x100 unit: ○—○) and polygalacturonase(●—●).

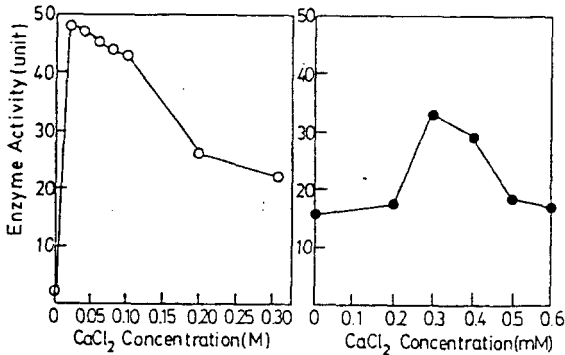


Fig. 3. Effect of CaCl<sub>2</sub> on the activity of pectinesterase(x100 unit: ○—○) and polygalacturonase(●—●).

PE는 0.02M에서, PG는 훨씬 낮은 농도인 0.3mM에서 최대 역가를 나타내었다. 또한 최적 온도는 PE가 50°C, PG가 65°C 였는데 PE는 60°C 이상의 온도에서는 열불활성화 되었으나 PG는 열에 안정하여 75°C에서도 상당한 역가를 나타내었다(Fig. 4). 이는 무우 PG<sup>(16)</sup>와 오이 PG<sup>(17)</sup>의 최적 온도가 각각 45°C, 40°C인 것에 비하여 상당히 열에 안정함을 알 수 있었다. 본 실험에서 얻은 PE 조효소는 pH, 온도 및 염농도에 대한 영향이 고등<sup>(19)</sup>의 정제된 PE의 특성과 비교할 때 F-B에 해당하는 isozyme과 거의 유사하였다.

이상의 결과에서 볼 때 배추 PE와 PG는 CaCl<sub>2</sub>에 대한 효과와 최적 온도에서 차이가 나므로 PE는 활성화시

키고 PG는 억제시키는 조건으로 CaCl<sub>2</sub>의 농도를 0.02 M 이상으로 하고 온도는 50°C 부근으로 추정된 다음 다음과 같이 예비 열처리를 행하였다.

예비 열처리 조건

예비 열처리와 CaCl<sub>2</sub> 처리가 배추의 줄기와 잎사귀의 경도에 미치는 영향을 살펴본 결과는 Fig. 5와 같다.

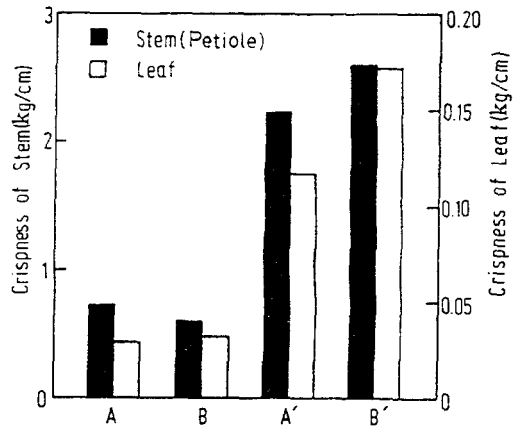


Fig. 5. Effects of preheating and CaCl<sub>2</sub> on the crispness of Chinese cabbage.

A: No preheating, 1.5hr in distilled water  
 B: No preheating, 1.5hr in 0.05M CaCl<sub>2</sub> solution  
 A': preheating, 1.5hr in distilled water  
 B': preheating, 1.5hr in 0.05M CaCl<sub>2</sub> solution  
 After pretreatment the samples were boiled in 2.5% NaCl solution and then the crispness were measured.

A는 예비 열처리하지 않고 1시간 30분 동안 증류수에 침지하였고 B는 예비 열처리하지 않고 0.05M CaCl<sub>2</sub> 용액에 침지시킨 것이다. A'는 증류수에서 1시간 30분 동안 예비 열처리한 것이고 B'는 0.05M CaCl<sub>2</sub> 용액에서 1시간 30분 동안 예비 열처리하였다. 상기와 같은 처리 후 2.5% NaCl 용액에서 15분간 끓인 후 경도를 측정하였다. A와 B의 차이 및 A'와 B'의 차이는 CaCl<sub>2</sub>의 침가 효과를 나타낸다고 볼 수 있다. 위에서 보듯이 예비 열처리를 하면 연화가 방지됨을 알 수 있었는데 CaCl<sub>2</sub> 침가가 상승효과를 주었으나 CaCl<sub>2</sub> 보다는 예비 열처리가 연화방지에 더 효과적임을 알 수 있었다. 특히 줄기보다 잎사귀에서 효과가 크게 나타났다. 이와 같은 사실은 PE의 작용에 의해 펙틴의 유리카복실기가 생성되어 Ca<sup>++</sup> 이온과 cross-linkage를 형성하여 경도가 증가되었기 때문으로 생각된다.

예비 열처리 시간에 따른 경도변화를 알아보기 위하여 50°C의 0.05M CaCl<sub>2</sub> 용액에서 시간별로 예비 열처리하여 2.5% NaCl 용액에서 15분간 끓인 후 경도를 측정하였다. 그 결과는 Fig. 6과 같이 열처리 시간 1시간 30분까지는 줄기와 잎사귀의 경우에 모두 경도가 직선적으로 증가하다가 그 이후 부터는 완만히 증가하거나 또는 증가하지 않았다. 따라서 예비 열처리 시간을 1시간 30분으로 정하였다. 예비 열처리시 CaCl<sub>2</sub> 농도에 따른 경도변화는 Fig. 7과 같다.

줄기의 경우 CaCl<sub>2</sub> 농도가 증가할 수록 경도가 증가하는 경향이였으며 잎사귀의 경우에는 0.03M-0.05M 범위에서 경도가 가장 높았다. 따라서 줄기와 잎사귀를 모두 고려하여 CaCl<sub>2</sub> 농도는 0.05M이 적당하다고 판단하였다.

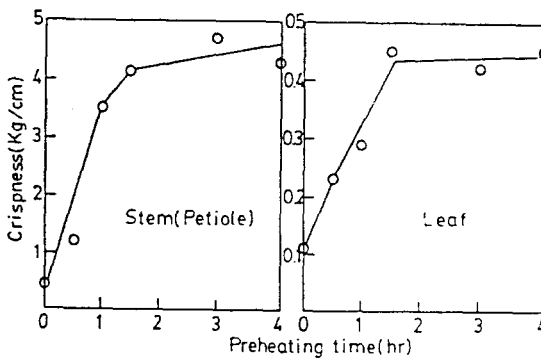


Fig. 6. Effect of preheating in 0.05M CaCl<sub>2</sub> at 50°C on the crispness of Chinese cabbage.

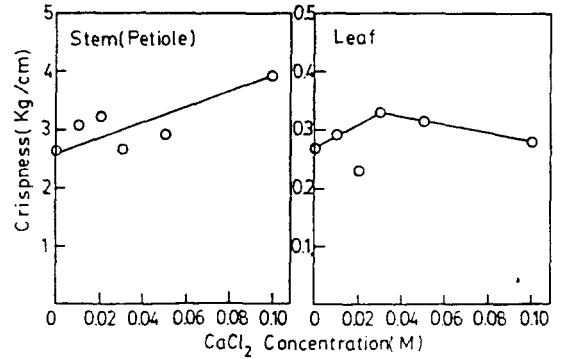


Fig. 7. Effect of CaCl<sub>2</sub> concentration for preheating on the crispness of Chinese cabbage.

김치통조림 제조

상법에 의한 김치(대조구)와 예비 열처리법에 의한 김치 170g(고형분 140g+김치액 30m<sup>l</sup>)을 휴대관(301-3호)에 넣고 20분 또는 30분간 살균하여 통조림을 제조하고 37°C에서 6개월간 저장한 후 김치의 경도와 국물의 혼탁도를 비교한 결과는 Table 1과 같다. 경도를 비교해 보면 예비 열처리법에 의한 김치가 상법에 의한 김치보다 경도가 높았는데 20분 살균한 구가 30분 살균한 구보다 경도가 높았으며 예비 열처리법에 의한 김치의 경도가 대조구 보다 줄기와 잎사귀에서 각각 1.41배, 1.50배(20분 살균) 그리고 1.36배, 1.51배(30분 살균) 높았다. 따라서 줄기 보다는 잎사귀에서 예비 열처리 효과가 높음을 알 수 있었다. 또한 김치국물의 불용성 고형분을 제거하기 위해 원심분리한 후 660nm에서 흡광도를 측정해 혼탁도를 비교해 본 결과 대조구가 예비 열처리구 보다 국물이 더 혼탁하였는데 이러한 사실은 대조구는 저장기간중 펙틴질이 분해되어 용출되었기 때문이고 예비 열처리구는 cross-linkage에 의해 펙틴질이 덜 분해되었기 때문

Table 1. Crispness and turbidity of canned Kimchi after 6 months storage at 37°C

Sterilization time (min)	Treatment	Crispness(kgcm <sup>-1</sup> )		Turbidity <sup>a)</sup>
		Stem (Petiole)	Leaf	
20	C	1.952±0.584	0.336±0.148	0.914
	P	2.760±0.316	0.504±0.102	0.125
30	C	1.832±0.418	0.332±0.026	0.345
	P	2.500±1.024	0.502±0.124	0.145

C: control P: preheating treatment  
a) absorbance at 660nm

으로 생각된다. 이러한 결과는 예비 열처리구의 정도가 더 높다는 사실과도 잘 일치한다.

요 약

김치의 연화현상을 방지하기 위해 배추에 존재하는 펙틴에스테라제(PE)와 폴리갈락투로나제(PG)의 특성을 이용하여 예비 열처리 조건을 구하고 예비 열처리한 배추로 김치통조림을 제조하여 6개월간 저장한 후 경도를 살펴 보았다. 최적 pH는 PE가 8.0, PG가 5.2 이었으며 최적 NaCl 농도는 PE가 0.25M, PG가 0.3M 이었다. PE의 최적 CaCl<sub>2</sub> 농도는 0.02M 이었으며 이 농도에서 PG는 저해되었다. 최적 온도는 PE가 50°C, PG가 65°C 이었다. 예비 열처리는 50°C의 0.05M CaCl<sub>2</sub> 용액에서 1시간 30분 동안 열처리하는 것이 최적으로 나타났다. 예비 열처리법에 의해 제조한 김치통조림을 6개월간 저장했을 때 대조구에 비해 줄기와 잎사귀는 경도가 더 높았으며 연화가 현저히 방지됨을 알 수 있었다.

문 헌

1. 이양희·양익환 : 우리나라 김치의 포장과 저장방법에 관한 연구. 한국농화학회지, 13, 207(1970)
2. 정호권 : 김치통조림의 간헐적 열처리 방법. 특허공보 제 150호(1967)
3. 권숙표·최건우 : 김치의 산패방지 보존법. 특허공보 제 152호(1967)
4. 김창식·김경호·정병호 : 김치통조림 제조법. 특허공보 제 135호(1966)
5. 조인석·이석연 : 김치의 산패방지법. 특허공보 제 163호(1968)
6. 송석훈·조재선·김 권 : 김치 보존에 관한 연구. 김치발효에 미치는 방부제의 영향에 관하여. 기술연구보고, 5, 5(1966)
7. 정호권 : Studies on the effect of furyl furamide(AF-2) on Korean Kimchi. 한국농화학회지, 12, 57(1969)
8. 김순동 : 김치 숙성에 미치는 pH 조정제의 영향. 한국영양식량학회지, 14, 259(1985)
9. Buescher, R.W., Hudson, J.M., and Adams, J.R. :

Utilization of calcium to reduce petinolytic softening of cucumber pickles in low salt conditons. *Lebensm. Wiss. u. Tech.*, 14, 65(1981)

10. Fleming, H.P., Thompson, R.L., Bell, T.A. and Hontz, L.H. : Controlled fermentation of sliced cucumbers. *J. Food Sci.*, 43, 888(1978)
11. Hoogzand, C. and Doesburg, J.J. : Effect of blanching on texture and pectin of canned cauliflower. *Food Technol.*, 15, 160(1961)
12. Van Buren, J.P., Moyer, J.C., Wilson, D.E., Robinson, W.B. and Hand, D.B. : Influence of blanching conditions on sloughing splitting, and Firmness of canned snap beans. *Food Technol.*, 14, 233(1960)
13. Bartolome, L.G. and Hoff, J.E. : Firming of potatoes: Biochemical effects of preheating. *J. Agric. Food Chem.*, 20, 266(1972)
14. Lee, C.Y., Bourne, M.C. and Van Buren, J.P. : Effect of blanching treatments on the firmness of carrots. *J. Food Sci.*, 44, 615(1979)
15. Manabe, T. : Studies on the firming mechanism of Japanese radish root by preheating treatment. 일본식품공업학회지, 27, 234(1980)
16. 육 철·장 금·박관화·안승요 : 예비 열처리에 의한 무우김치의 연화방지. 한국식품과학회지, 17, 447(1985)
17. 백형희 : 예비 열처리에 의한 오이지의 연화방지. 서울대학교 석사학위논문(1986)
18. 안장우·백형희·박관화 : 배추 김치조직의 경도측정. 한국식품과학회 제 38차 학술발표회 초록(1987)
19. 고영환·박관화 : Purification and characterization of Chinese cabbage pectinesterase. 한국식품과학회지, 16, 235(1984)
20. Tucker, G.A., Robertson, N.G. and Grierson, D. : Changes in polygalacturonase isoenzymes during the ripening of normal and mutant tomato fruit. *Eur. J. Biochem.*, 112, 119-124(1980)
21. Lin, Y.K. and Luh, B.S. : Purification and characterization of endo-polygalacturonase from *Rhizopus arrhizus*. *J. Food Sci.*, 43, 721(1978)

(1988년 11월 11일 접수)