

## 김치재료에 존재하는 Pectinesterase, Polygalacturonase 및 Peroxidase 특성에 관한 연구

박희옥 · 김기현 · 윤 선

연세대학교 생활과학대학 식품영양학과  
(1990년 11월 1일 접수)

## A Study of Characteristics of Pectinesterase, Polygalacturonase and Peroxidase in Kimchi Materials

Hee Ok Park, Kee Hyun Kim and Sun Yoon

Department of Food and Nutrition, Yonsei University

(Received November 1, 1990)

### Abstract

The object of this study was to investigate the characteristics of pectinesterase(PE), polygalacturonase(PG) and Peroxidase(POD) in *Kimchi* materials.

The results were as follows :

1. The specific activities of PEs in Korean cabbage, Korean radish, garlic and ginger were 200 unit/mg protein, 23.1 unit/mg protein, 0.8 unit/mg protein and 3.2 unit/mg protein, respectively. The optimum pHs of PEs in all materials were between 7 to 8. The concentrations of NaCl, CaCl<sub>2</sub> which showed the highest activities of PEs were 0.2~0.3 M NaCl, 50 mM CaCl<sub>2</sub> in Korean cabbage and radish, 0.05 M NaCl, 20 mM CaCl<sub>2</sub> in garlic and 0.2 M NaCl, 20 mM CaCl<sub>2</sub> in ginger.
2. The specific activities and the optimum pHs of PGs were 1.5 unit/mg protein and pH 4.5 in Korean cabbage, 1.6 unit/mg protein and pH 4.5~5.5 in Korean radish, 0.06 unit/mg protein and pH 3.0~3.5 in garlic, and 0.06 unit/mg protein and pH 4.5~5.5 in ginger. The concentrations of NaCl, CaCl<sub>2</sub> which showed the highest activities of PGs were 0.1~0.2 M NaCl and 0.15~0.2 mM CaCl<sub>2</sub> in all materials.
3. The specific activities and the optimum pHs of PODs in Korean cabbage, Korean radish, garlic and ginger were 71.3 unit/mg protein; pH 6.0, 769 unit/mg protein; pH 5.5, 1.09 unit/mg protein; pH 4.5 and 12.7 unit/mg protein; pH 5.0~5.5, respectively. POD activities were not decreased in Korean cabbage, but decreased in Korean radish by the increase of NaCl, CaCl<sub>2</sub> concentrations. In garlic and ginger, POD activities were a little slightly affected by the increase of NaCl, CaCl<sub>2</sub> concentrations.

### I. 서 론

Pectinesterase(PE), Polygalacturonase(PG) 및 peroxidase(POD) 등은 식물계에 널리 존재하는 효소들로서, 식품내에 존재할 경우 식품의 품질변화에 많은 영향을 주게 된다.<sup>1)</sup>

Pectic enzymes 중 PE와 PG는 식물세포의 페린질을 변화시켜 조직간에 영향을 준다. PE는 페린의 methoxyl기를 떼어내고 유리카르복실기를 만들어 페

린질들 사이에 Ca<sup>2+</sup>을 통한 가교를 형성하게 하여 식물조직의 경도를 증가시키는 반면, 페틴분해효소인 PG는 페린의 glucosidic linkage를 가수분해하여 수용성 물질을 증가시킴으로써 식물세포조직의 연부현상을 초래한다.<sup>2)</sup> POD는 고온에서 안정한 hemoprotein으로 식품을 저장하는 동안 이화와 색소변화를 초래하는 것으로 알려졌다.<sup>1)</sup>

이에 본 연구에서는 김치제조 및 숙성과정 중에 이러한 효소들이 김치의 품질에 영향을 줄 것으로 생각

되어 김치재료에 함유되어 있는 PE, PG 및 POD의 특성을 규명하고자 한다.

## II. 재료 및 실험방법

### 1. 실험재료 및 시약

효소활성 측정을 위하여 김치재료인 배추, 무우, 마늘, 생강은 신촌시장의 일정 점포에서 구입하였다.

PE 활성 측정을 위해 사용한 기질은 9.5% methoxyl 함량을 갖는 citrus pectin(No.P9135, Sigma)이었고, PG 활성 측정을 위해서는 polygalacturonic acid(No. P-3889, Sigma)와 DNS(dinitrosalicylic acid, No. D-1510, Sigma)를 사용하였다. POD 활성 측정을 위해 guaiacol(No. G-5502, Sigma)을 사용하였다.

기타 실험에 사용한 시약들은 특급 혹은 1급 시약을 사용하였다.

### 2. 효소의 추출

김치의 주재료가 되는 배추, 무우, 마늘, 생강을 각각 칼로 곱게 다진 후 1M NaCl 용액과 1:1(w/v)의 비율로 waring blender에 넣고 2분간 간 다음 4°C에서 하룻밤 방치하였다. 4겹의 가아재에 넣고 착즙한 다음 찌꺼기는 버리고, 9,000×g에서 15분간 원심분리(J2-21, Beckman)한 후 상등액을 취하였다. 상등액을 질소압(50 psi) 하에 ultrafiltration(Amicon membrane PM-10)하여 당과 염분을 제거하고 농축시켰다.

### 3. 효소의 활성 측정

#### 1) Pectinesterase(PE)

PE의 활성은 육 등<sup>3)</sup>의 방법을 변형시켜 측정하였다. 0.15 M NaCl을 함유하는 0.45% 페틴용액 25 mL를 pH 7.0 이상으로 조절한 다음 효소액 1 mL를 넣었다. 정확하게 pH 7.0으로 조정하고, 이 순간부터 pH 7.0에서 3분 동안 생성되는 산을 0.01 N-NaOH로 적정하였다.

PE 역가는 단백질 1 mg이 pH 7.0에서 1분 동안  $1 \times 10^{-7}$  M의 카르복실기를 유리시킬 때 1단위로 나타내었다.

#### 2) Polygalacturonase(PG)

PG 활성은 효소의 작용으로 유리되는 환원당인 galacturonic acid의 함량을 DNS에 의한 비색법으로 측정하였다.<sup>4)</sup>

0.45% polygalacturonic acid 용액(0.1 M NaCl 함유 0.03 M 완충액) 0.48 mL에 효소액 0.02 mL를 넣고 30°C 항온조에서 교반하면서 2시간 동안 반응시켰다. 100°C 수조에서 3분간 끓여 효소를 불활성시킨 다음 0.1 N-NaOH 0.5 mL를 넣어 알칼리용액으로 만든 후 DNS

용액 1 mL를 첨가하고 다시 100°C 수조에서 5분간 끓였다. 끈, 흐르는 물에 냉각시키고 중류수 5 mL를 넣어 충분히 혼합시킨 후 2,500×g에서 5분간 원심분리하였다. 공실험은 기질용액에 불활성화시킨 효소액을 첨가한 다음 위의 과정을 똑같이 거쳤다. 520 nm에서 흡광도를 측정하여 α-D-galacturonic acid로 만든 표준곡선에서 환원당의 양을 구했다.

PG의 역가는 단백질 1 mg이 2시간 동안 1 mg의 환원당을 생성할 때를 1단위로 정하였다.

#### 3) Peroxidase(POD)

POD의 활성도는 김<sup>5)</sup>의 방법을 수정하여 측정하였다. 0.05 M 완충액 2.4 mL에 효소액 0.15 mL, 150 mM guaiacol 0.3 mL를 가하였다. 여기에 100 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 넣고 잘 저어준 다음 끈 470 nm에서의 흡광도 증가를 측정하였다.

효소활성 1단위는 1분 동안 단백질 1 mg에 의해 470 nm의 흡광도를 1.0 증가시키는 활력을 말한다.

### 4. 단백질농도 측정

효소액의 단백질 농도는 bovine serum albumin을 표준단백질로 사용하여 Lowry 방법<sup>6)</sup>으로 측정하였다.

### 5. 효소의 특성 측정

#### 1) pH 변화에 따른 효소의 활성측정

pH 변화에 따른 효소활성 변화를 알아보기 위한 완충용액은 pH 3.0~6.0은 citrate-phosphate buffer, pH 6.0~7.5 사이는 potassium-phosphate buffer, pH 7.5~9.0은 tris-HCl buffer, pH 9.5~10.5는 Na-carbonate buffer를 사용하였다.

#### 2) 염농도 변화에 따른 효소활성 측정

염의 종류와 농도가 효소활성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 NaCl의 경우 0, 0.025, 0.05, 0.075, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 M 농도에서, CaCl<sub>2</sub>의 경우 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 2.5, 5.0, 7.5, 10 mM 농도에서는 PG와 POD 활성을 2.5, 5.0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 100 mM 농도에서는 PE 활성을 측정하였다.

## III. 결과 및 고찰

### 1. Pectinesterase(PE)

PE는 배추, 무우, 마늘, 생강 모두에 존재하였다. 그 활성을 pH 7.0에서 측정한 결과 배추는 200 unit/mg protein, 무우 23.1 unit/mg protein, 마늘 0.8 unit/mg protein, 생강 3.2 unit/mg protein으로 배추에 PE가 많이 함유되어 있음을 알 수 있었다. PE는 양념류인 마늘이나 생강보다 배추나 무우에 다량 함유되어 있어, 김치를 제조할 때 배추나 무우에 함유되어 있는 PE를

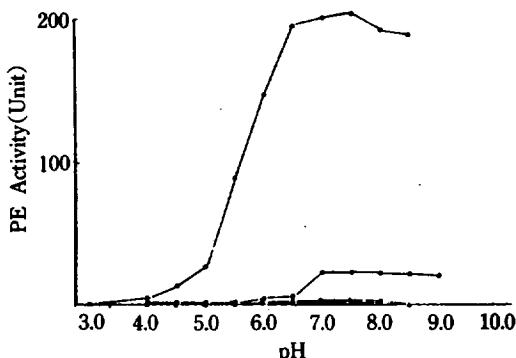


Fig. 1. pH profile of pectinesterase activity in Korean cabbage : ○-○, Korean radish : ●-●, garlic : △-△, and ginger : □-□

활성화시키는 방법을 이용하여 김치조직의 경도를 높일 수 있으리라 기대된다.

pH 변화에 따른 PE의 활성변화를 보았을 때 배추의 경우 pH 7.5, 무우 pH 7.0~8.5, 마늘 pH 7.0, 생강 pH 7.0~7.5로 산성보다는 중성과 약알칼리성 쪽에서 활성이 커졌다(Fig. 1). 이와 같은 결과는 토마토<sup>7)</sup>, 김글류<sup>8)</sup>, 배추<sup>9)</sup>, 오이<sup>10)</sup> 등과 같은 고등식물에 존재하는 PE의 최적활성 pH와 일치하였다. 곰팡이가 분비하는 PE는 pH 4.5 근처의 산성에서 오히려 활성이 큰 것으로 보고되었다.<sup>11)</sup> 김치제조시 초기의 pH는 5.6 근처이나 숙성됨에 따라 pH가 점차 감소하여 김치재료에서부터 오는 PE는 숙성된 김치에서는 활성을 거의 나타내지 않으리라 생각된다. 숙성기에 있는 김치의 pH가 5.0 이하인 것을 고려할 때 김치조직의 조직감 향상을 위한 PE 활성화 방법은 김치담금 전단계에서 행하여져야 할 것이다. 즉, 배추나 무우를 예비열처리와  $\text{Ca}^{2+}$  첨가 방법 등을 통하여 질감을 향상시킨 후 김치를 제조하는 것이 바람직하다 하겠다.

$\text{NaCl}$ ,  $\text{CaCl}_2$ 같은 염류가 PE의 활성에 미치는 영향을 연구한 결과(Fig. 2, 3), 배추와 무우 PE의 경우 0.2~0.3 M  $\text{NaCl}$ 과 50 mM  $\text{CaCl}_2$  농도에서 최대 활성을 보였으며 마늘에 있어서는 0.05 M  $\text{NaCl}$ 과 20 mM  $\text{CaCl}_2$  농도에서 생강에서는 0.2 M  $\text{NaCl}$ 과 20 mM  $\text{CaCl}_2$  농도에서 최대 활성을 보여주었다. 이상의 결과 배추, 무우, 마늘, 생강의 PE는  $\text{NaCl}$ 과  $\text{CaCl}_2$ 를 첨가했을 때 활성이 높아졌으며, 0.2~0.3 M  $\text{NaCl}$ 과 20~50 mM  $\text{CaCl}_2$ 에서 최대 활성을 가짐을 알 수 있었다.

이와 같은 결과는 배추 PE가 0.25 M  $\text{NaCl}$ 과 10 mM  $\text{CaCl}_2$ 에서 최대 활성을 보였다는 고 등<sup>9)</sup>의 결과와 무우 PE가 0.3 M 부근의  $\text{NaCl}$ 과 50 mM  $\text{CaCl}_2$ 에서 최대의 활성을 보였다는 육 등<sup>3)</sup>의 결과와 유사하였으며, 생강 PE의  $\text{NaCl}$ 과  $\text{CaCl}_2$  농도에 따른 특성은 김<sup>10)</sup>의 오이

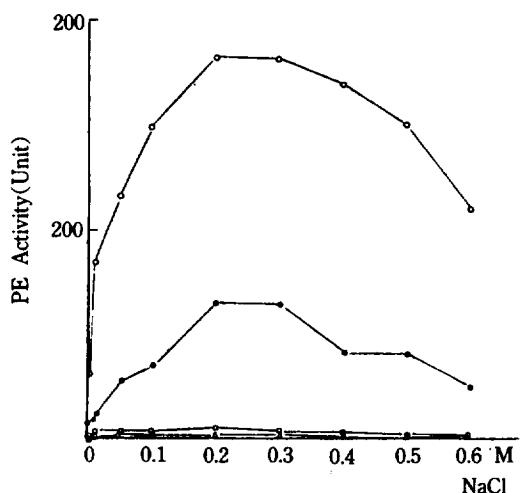


Fig. 2. Effect of NaCl on pectinesterase activity in Korean cabbage : ○-○, Korean radish : ●-●, garlic : △-△, and ginger : □-□

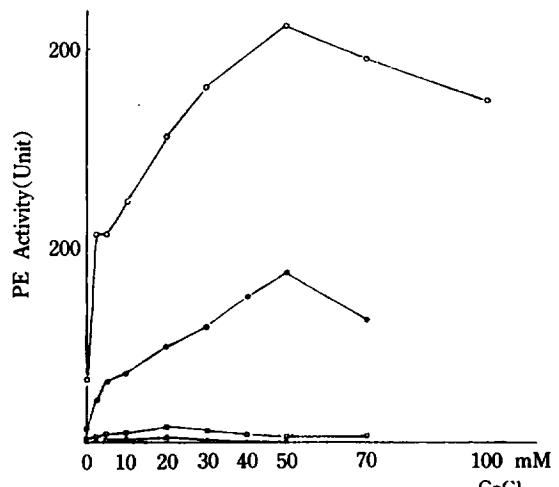


Fig. 3. Effect of  $\text{CaCl}_2$  on pectinesterase activity in Korean cabbage : ○-○, Korean radish : ●-●, garlic : △-△, and ginger : □-□

#### PE 특성과 일치하였다.

김치재료인 배추, 무우, 마늘, 생강에 존재하는 PE는 약 3%의  $\text{NaCl}$ (약 0.5 M  $\text{NaCl}$ ) 농도를 갖는 김치내에서  $\text{NaCl}$ 에 의하여 활성이 촉진되리라 생각되지만, 점차 최적 pH를 벗어나게 되므로 김치제조 전에 PE를 활성화하여 김치조직의 경도를 높이는 것이 바람직하다 하겠다. 즉, 배추나 무우를 소금에 절이는 동안 배추와 무우조직내 PE가 활성화하여 김치조직의 경도가 증가할 것으로 생각되며, 이 때 20~50 mM의  $\text{CaCl}_2$ 를 첨

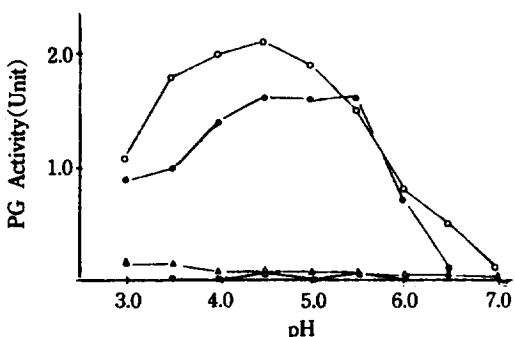


Fig. 4. pH profile of polygalacturonase activity in Korean cabbage : ○-○, Korean radish : ●-●, garlic : △-△, and ginger : □-□

가해 주면 김치조직의 경도 증가에 더욱 큰 효과를 기대할 수 있을 것이다.

## 2. Polygalacturonase(PG)

배추, 무우, 마늘 및 생강에 PG가 있음이 밝혀졌다. pH 5.5에서 측정한 PG의 specific activity는 배추 : 1.5 unit/mg protein, 무우 : 1.6 unit/mg protein, 마늘 : 0.06 unit/mg protein, 생강 : 0.06 unit/mg protein이었다. 김치제조시 PG에 의해 김치의 조직이 물러지는 것을 방지하기 위해서 배추와 무우내 PG 활성을 저해할 필요가 있을 것이다.

배추, 무우, 마늘 및 생강에 존재하는 PG의 pH profile 결과를 Fig. 4에 제시하였다. 배추 PG는 pH 4.5에서 최대 활성을 보였으며 pH 7.0 이상에서는 활성이 거의 나타나지 않았다. 무우 PG는 pH 4.5와 pH 5.5에서 최대활성을 보였으며 pH 6.5 이상에서는 활성이 거의 소멸되었다. 마늘 PG는 pH 3.5 근처에서 최대활성을 보이고 그 이후에서는 활성이 점차 감소하였으며, 생강의 경우 pH 4.5와 pH 5.5에서 2개의 최대 활성 peak가 나타났으나 그 값이 매우 작았으며 pH 6.0 이상에서는 활성이 나타나지 않았다. 이상의 결과에서 배추, 무우, 마늘 및 생강에 존재하는 PG는 pH 4 근처에서 최대 활성을 가지며 pH 7.0 이상에서는 활성을 나타내지 않음을 알 수 있었다. 그러므로 이들 김치재료에 존재하는 PG는 김치의 속성 및 산폐과정의 pH에서 오히려 활성화되리라 사료된다. 따라서 김치제조 전 배추나 무우내의 PG를 불활성화시킬 수 있는 방법이 강구된다면 김치의 속성 말기에 나타나는 조직의 연화작용을 어느 정도 막을 수 있으리라 기대된다.

NaCl 및 CaCl<sub>2</sub> 같은 염류가 배추, 무우, 마늘 및 생강에 존재하는 PG의 역가에 미치는 영향을 알아본 결과는 다음과 같다(Fig. 5, 6). PG 역가에 미치는 NaCl의 영향은 배추와 무우의 경우, NaCl 첨가에 따라

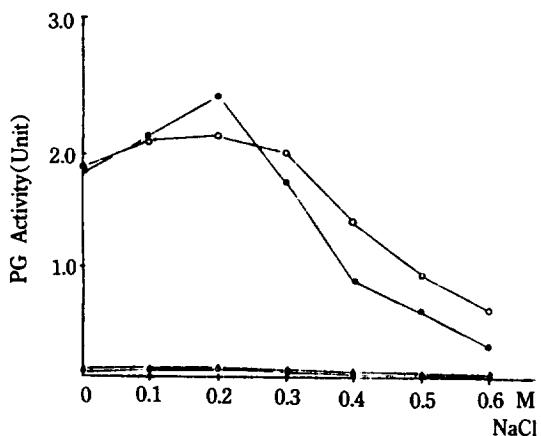


Fig. 5. Effect of NaCl on polygalacturonase activity in Korean cabbage : ○-○, Korean radish : ●-●, garlic : △-△, and ginger : □-□

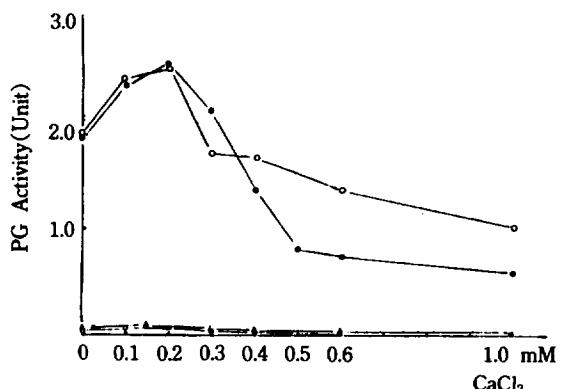


Fig. 6. Effect of CaCl<sub>2</sub> on polygalacturonase activity in Korean cabbage : ○-○, Korean radish : ●-●, garlic : △-△, and ginger : □-□

활성이 점차 증가하여 0.2 M NaCl에서 최대 활성을 보인 후 점점 감소하여 0.3 M NaCl 이상에서는 NaCl을 전혀 첨가하지 않았을 때보다 낮은 활성을 보여주었다. 마늘과 생강에 존재하는 PG도 0.1~0.2 M NaCl에서 최대 활성을 보인 후 점차 감소하여 0.3 M 이상의 농도에서는 배추와 무우 PG의 특성과 일치하는 결과를 보여주었다. 여기에서 배추, 무우, 마늘, 생강에 존재하는 PG는 NaCl 농도 0~0.3 M 사이에서는 활성화되나 0.3 M 이상의 NaCl 농도에서는 활성이 억제됨을 알 수 있었다. CaCl<sub>2</sub> 농도가 PG 활성에 미치는 영향을 보면, PG의 출처에 관계없이 0.15~0.2 mM CaCl<sub>2</sub>일 때 최대 활성을 보인 후 0.3 mM 이상에서는 CaCl<sub>2</sub>에 의하여 활성이 억제됨을 알 수 있었다. 이상의 결과는 육 등<sup>3)</sup>과 백 등<sup>12)</sup>의 결과와 유사하였다.

이러한 결과로부터 배추나 무우, 마늘, 생강에 존재

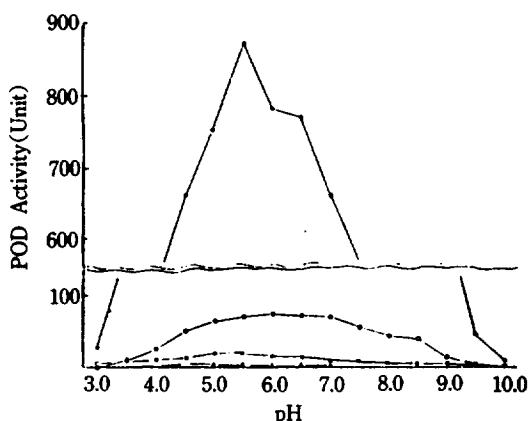


Fig. 7. pH profile of peroxidase activity in Korean cabbage : ○-○, Korean radish : ●-●, garlic : △-△, and ginger : □-□

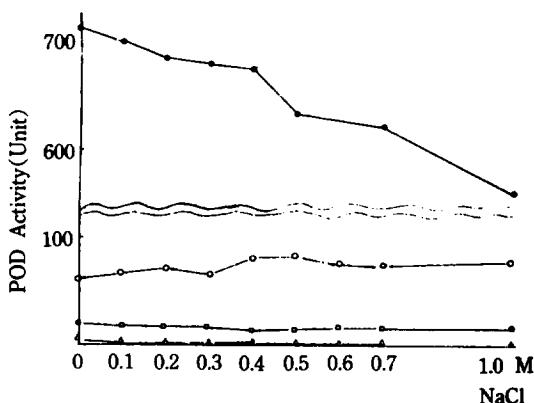


Fig. 8. Effect of NaCl on peroxidase activity in Korean cabbage : ○-○, Korean radish : ●-●, garlic : △-△, and ginger : □-□

하는 PG는 3% 정도의 NaCl 농도를 가지는 김치속에서는 활성이 억제될 것으로 생각되며, 김치제조시 0.3 mM 이상의 CaCl<sub>2</sub>를 첨가해주면 활성억제에 더욱 효과적일 것으로 생각되는 바이다.

### 3. Peroxidase(POD)

배추와 무우, 마늘 및 생강에 존재하는 POD의 specific activity는 pH 6.5에서 순서대로 71.3 unit/mg protein, 769 unit/mg protein, 1.09 unit/mg protein, 12.7 unit/mg protein으로 무우에서 가장 높았고, 그 다음이 배추, 생강, 마늘 순이었다. POD가 무우에 가장 많이 들어 있는 것으로 보아 무우 김치의 향미와 색깔 등에 미치는 POD의 영향이 클 것으로 생각된다.

배추, 무우, 마늘 및 생강 POD의 pH profile 연구결과 출처에 따른 효소의 최적 pH는 순서대로 6.0, 5.5, 4.5,

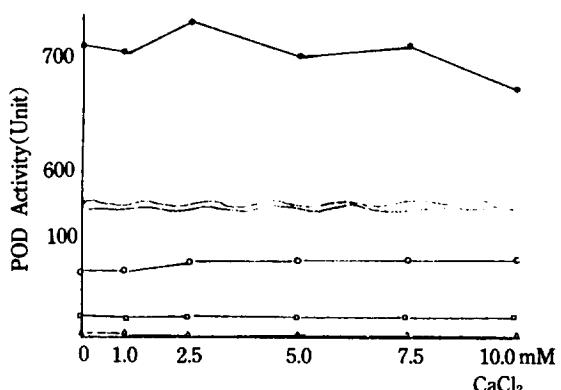


Fig. 9. Effect of CaCl<sub>2</sub> on peroxidase activity in Korean cabbage : ○-○, Korean radish : ●-●, garlic : △-△, and ginger : □-□

5.0~5.5로서 대체적으로 약산성과 중성사이에서 활성이 큰 것으로 나타났다(Fig. 7). 그러므로 산성을 나타내는 김치에서도 POD의 활성이 크게 나타날 것으로 보이며, 이들 POD의 작용이 김치의 품질에 영향을 줄 것으로 짐작된다.

NaCl, CaCl<sub>2</sub> 같은 염이 POD 활성에 미치는 영향을 연구한 결과는 Fig. 8, 9에 제시한 바와 같다. 배추 POD의 경우 NaCl과 CaCl<sub>2</sub> 농도 증가에 따라 활성감소 현상을 보이지 않았으나, 무우 POD의 경우엔 NaCl과 CaCl<sub>2</sub> 농도 증가에 따라 약간의 감소현상을 보여주었다. 마늘과 생강 POD는 NaCl과 CaCl<sub>2</sub> 농도 증가에 따라 활성이 감소하는 듯 하였으나 큰 영향을 받지 않았다.

### IV. 결 론

본 연구는 김치재료인 배추, 무우, 마늘, 생강에 존재하는 효소 Pectinesterase(PE), Polygalacturonase(PG), Peroxidase(POD)의 특성을 밝히고자 시도되었다. 그 결과는 다음과 같다.

1. PE의 활성은 배추, 무우, 마늘, 생강에서 모두 확인되었다. 효소활성은 순서대로 200 unit/mg protein, 23.1 unit/mg protein, 0.8 unit/mg protein, 3.2 unit/mg protein이었으며, 최적 pH는 모두 7.0~8.0이었다. PE 활성에 미치는 NaCl과 CaCl<sub>2</sub>의 농도는 각각 배추와 무우 : 0.2~0.3 M NaCl, 50 mM CaCl<sub>2</sub>, 마늘 : 0.05 M NaCl, 20 mM CaCl<sub>2</sub>, 생강 : 0.2 M NaCl, 20 mM CaCl<sub>2</sub>에서 최대 활성을 보여주었다.

2. 배추, 무우, 마늘, 생강에 존재하는 PG 활성과 pH는 순서대로 1.5 unit/mg protein, pH 4.5 : 1.6 unit/mg protein, pH 4.5~5.5 : 0.06 unit/mg protein, pH 3.0~3.5 : 0.06 unit/mg protein, pH 4.5~5.5이었다. PG

역가에 미치는 영향은 출처에 관계없이 0.1~0.2 M NaCl과 0.15~0.2 mM CaCl<sub>2</sub>에서 최대 활성을 보여주었다.

3. 배추, 무우, 마늘, 생강 POD의 활성과 최적 pH는 순서대로 71.3 unit/mg protein, pH 6.0; 769 unit/mg protein, pH 5.5; 1.09 unit/mg protein, pH 4.5; 12.7 unit/mg protein pH 5.0~5.5이었다. 염농도가 POD 활성에 미치는 영향은 NaCl과 CaCl<sub>2</sub> 농도 증가에 따라 배추의 경우 활성감소 현상을 보이지 않았으나 무우의 경우엔 활성감소 현상을 보여주었으며, 마늘과 생강은 NaCl과 CaCl<sub>2</sub> 농도 증가에 따라 활성감소에 큰 영향을 받지 않았다.

## 사사

이 연구는 (주)미원부설 한국음식문화연구원이 지원한 연구비로 수행된 것입니다. 감사합니다.

## 참고문헌

1. Fennema, O. R. : Food Chemistry, Dekker, pp. 371~

- 476(1985).
2. Paul, P. C. and Plamer, H. H. : Food Theory and Application, Helen Charly, pp. 251~334(1972).
3. 육 철, 장 금, 박관화, 안승요 : 한국식품과학회지, 17(6), 447(1985).
4. 정동효, 장현기 : 최신식품분석법-식품규격공정시험법, 삼중당, pp. 131~133(1985).
5. 김정아 : 연세대학교 석사학위논문(1987).
6. Lowry, O. H., Rousebroug, N. L., Farr, A. L. and Randall, R. J. : J. Biol. Chem. 193, 265(1951).
7. Lee, M. and Macmillan, J. D. : Biochem. 7(11), 4005 (1968).
8. Manabe, M. : Agr. Biol. Chem. 37(6), 1487(1973).
9. 고영환, 박관화 : 한국식품과학회지, 16(2), 235(1984).
10. 김기현 : 연세대학교 석사학위논문(1988).
11. 오혜숙 : 연세대학교 박사학위논문(1988).
12. 배형희, 이창희, 우현덕, 박관화, 이규순, 남상봉 : 한국식품과학회지, 21(1), 149(1989).