

## 감과 대추의 연화중 가용성 단백질의 변화

서지형 · 신승렬\* · 정용진\*\* · 김광수†

영남대학교 식품영양학과

\*경산대학교 식품과학과

\*\*동국전문대학 전통발효식품과

## Changes in Soluble Proteins during Softening of Persimmon and Jujube Fruits

Chi-Hyeong Seo, Seung-Ryeul Shin\*, Yong-Jin Jeung\*\* and Kwang-Soo Kim†

Dept. of Food and Nutrition, Yeungnam University, Kyungsan 712-749, Korea

\*Dept. of Food Science, Kyungsan University, Kyungasn 712-240, Korea

\*\*Dept. of Traditional Fermented Food, Dongkuk Junior College, Chilkok 718-850, Korea

### Abstract

Changes of protein contents and chromatogram patterns by gel filtration chromatography was investigated for the purpose of studying changes of proteins during softening of persimmon and jujube fruits. Contents of water-soluble and salt-soluble proteins were increased during softening of persimmon and jujube fruits, but that of cell wall-bound proteins was decreased. After performing a gel filtration of water-soluble protein, one peak was separated in mature persimmon fruits and three peaks in soft persimmon fruits. In the case of jujube fruits, there were three peaks in both of mature and soft fruits. Pattern of salt-soluble and cell wall-bound proteins by gel filtration chromatography hardly changed during softening. During softening of two fruits, the contents of water-soluble and salt-soluble proteins appeared to be increased on the same fractions with the decreasing in content of cell wall-bound proteins.

**Key words:** persimmon, jujube, cell wall protein, maturation

### 서 론

최근 생활수준의 향상에 따른 식생활 패턴의 변화로 과실의 소비가 매년 급격하게 증가하고 있으며, 이러한 소비증가 추세로 과실의 신선도 유지, 가공, 저장 및 품질향상에 대한 광범위한 연구·개발이 요구되고 있다. 과실은 탄수화물, 무기질 및 비타민의 급원이며, 독특한 조직감, 향기, 색상을 가진 기호성이 높은 식품으로, 우리나라 농가소득에도 한몫을 차지하고 있다(1). 하지만 아직까지 저장·가공 기술이 낙후되어 성숙·저장 및 유통중에 나타나는 연화나 부패 등의 생리적인 변화로 인해 많은 경제적 손실이 발생되고 있다(2).

과실의 연화는 성숙·저장·유통과정 중에 일어나는 물성변화로써, 세포벽분해효소에 의해 세포벽 성분이 분해되어 과실의 품질에 많은 영향을 준다(3). 사과(4), 토마토(5), 복숭아(6), 대추(7)와 같은 다양한 과실을

대상으로 행해진 많은 연구·보고에 따르면, 연화와 관련된 세포벽 성분의 변화는 생체내에 존재하는 polygalacturonase,  $\beta$ -galactosidase, pectinmethylesterase, cellulase 등과 같은 세포벽 분해효소의 활발한 작용으로 세포벽 성분이 분해되어, 그 결과로 세포벽을 구성하고 있는 hemicellulose와 pectin질이 가용화·저분자화되고 비섬유성 중성당, 세포벽 단백질 및 칼슘의 유리 현상이 나타난다.

세포벽 단백질의 변화에 관한 연구로서는 Knee(8)과 Strand 등(9)은 성숙중 세포벽 분해효소의 작용으로 구조단백질인 세포벽 단백질이 유리되어 가용성 단백질의 함량이 증가하고, 이러한 세포벽 단백질의 유리는 polygalacturonase에 가장 큰 영향을 받으며, 염처리에 의해서도 가능하다고 보고하였다(8,9). 하지만 가용화된 단백질이 세포벽 단백질이 아니라는 이견(10)도 있어서 아직까지 과실의 성숙 및 연화동안에 나타나는 가용성 단백

†To whom all correspondence should be addressed

질의 증가에 대해서 정확하게 밝혀지지 않고 있다.

따라서 본 연구는 과실의 연화동안에 일어나는 가용성 단백질 및 세포벽 단백질의 변화에 대해 연구하고자, 완숙·연화된 감과 대추로부터 용해성에 따라 추출한 수용성 단백질, 염가용성 단백질 및 세포벽 단백질의 함량과 Sephacryl S-200 column chromatography를 이용한 이들 단백질의 gel filtration chromatogram pattern 변화를 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

본 실험에서는 청도와 경산지역에서 생산된 청도 반시종 삼시(*Diospyros kaki*, L)와 북조종 대추(*Zizyphus jujube*, M)를 완숙기에 수확한 완숙 과실과, 일정기간 동안 연화시킨 연화된 과실을 재료로 사용하였다.

### 단백질의 추출

수용성 단백질의 추출은 Hobson 등(11)이 행한 방법에 따라 200g의 과육에 10mM sodium acetate buffer (pH 5.0) 400ml를 가하여 균질화시켜 3시간 동안 추출한 다음 8000×g로 20분간 원심분리하여 그 상등액을 분리하여 시료로 하였다. 염가용성 단백질의 추출은 수용성 단백질을 추출 후 남은 잔사에 2배의 증류수를 가해 균질화시킨 후 NaCl을 1M이 되도록 가해 3시간 동안 저어준 후 이 균질액을 8000×g로 20분간 원심분리하여 얻은 상등액을 염가용성 단백질로 하였다.

세포벽 단백질을 분리하기 위한 세포벽의 추출은 수용성 단백질과 염가용성 단백질을 추출하고 남은 잔사를 Jarvis의 방법(12)에 따라 요오드 정색반응이 없을 때까지 methanol로 세척하여 당성분을 제거하고, 다시 chloroform으로 3회 세척·여과한 다음 얻은 잔사를 동결건조하여 세포벽성분으로 하였다. 동결건조된 세포벽 성분은 0.025% sodium azide와 정제한 polygalacturonase를 함유한 10mM sodium acetate buffer(pH 4.5)에 현탁시켜 30°C 항온기에서 48시간 방치한 후에 가용화된 단백질을 추출하여 세포벽 단백질로 하였다.

### 단백질의 정량

단백질의 함량 측정은 Lowry 등(13)의 방법에 따라 행하였다.

Gel filtration chromatography에 의한 단백질의 pattern 변화

Ali와 Brady 등(14)의 방법에 따라 10mM sodium ace-

tate buffer(pH 5.0)로 평형시킨 Sephacryl S-200 column(2×45 cm)에 Amicon diaflo ultrafiltration system을 사용해서 N<sub>2</sub> gas하에서 가압, 농축한 각 단백질액을 주입하여 유속 0.22ml/min., 20분 간격으로 분획하였고, 이때 단백질의 chromatogram은 UV monitor(LKB, Sweden)를 사용하여 280nm에서 흡광도로 나타내었다.

## 결과 및 고찰

### 단백질의 함량 변화

감과 대추의 연화에 따른 수용성 단백질, 염가용성 단백질 및 세포벽 단백질의 함량 변화는 Table 1과 같다. 과실의 연화동안 추출용매에 따른 단백질의 유리 pattern은 완숙감의 경우 수용성 단백질 함량이 가장 높고, 그 뒤를 염가용성, 세포벽 단백질 순으로 나타났으며, 연시에서는 염가용성, 수용성 및 세포벽 단백질 순으로 함량이 높았다. 이에 반해 대추에서는 완숙대추와 연화대추 모두 수용성, 염가용성 및 세포벽 단백질 순으로 함량이 높았다. 수용성 단백질은 완숙감과 연시에서 각각 98.2, 112.6mg/100g-fr.wt.로 연시에서 다소 많은 양이 유리되었고, 대추의 경우에는 수용성 단백질의 함량은 각각 117.1, 183.4mg/100g-fr.wt.로서 연화된 대추의 단백질 함량이 뚜렷히 증가하였다. 또한 완숙기의 감과 대추에서 51.7, 101.8mg/100g-fr.wt.로 나타난 염가용성 단백질 함량도 연화된 과실에서는 각각 133.2, 139.5mg/100g-fr.wt.로 증가하였으며, 대추에 비해 감에서 증가현상이 좀더 현저하였다. 세포벽 단백질의 함량은 완숙감과 연시에서는 각각 13.2, 6.5mg/100g-fr.wt., 대추의 경우에는 감에 비해 약간 높은 38.8, 15.1mg/100g-fr.wt.으로 연화동안에 함량이 감소하였다.

과실의 세포벽 단백질은 세포벽의 중층을 구성하는 pectin의 잔기와 단백질의 serine 잔기가 결합되어 있으며, hydroxyproline 잔기를 다량 함유하고 있는 것이 특징으로, 과실의 연화시에 세포벽 분해효소의 작용에 의해서 pectin질이 분해되어 가용화됨으로서 세포벽에

Table 1. Changes in protein content during softening of persimmon and jujube fruits (mg/100g-fr.wt.)

Group	Persimmon		Jujube	
	MF	SF	MF	SF
WSP	98.2	112.6	117.1	183.4
SSP	51.7	133.2	101.8	139.5
CWP	13.2	6.5	38.8	15.1

MF, mature fruits; SF, soft fruits; WSP, water-soluble protein; SSP, salt-soluble protein; CWP, cell wall-bound protein

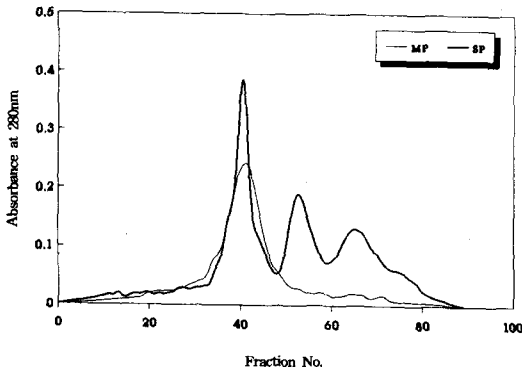
결합하고 있던 세포벽 단백질이 가용화되어 유리된다고 보고하였다(8,9). 특히 polygalacturoanase 등과 같은 pectin 분해효소들이 세포벽을 구성하고 있는 pectin을 분해함으로써 세포벽 단백질이 유리되어 가용성 단백질의 함량이 증가한다는 보고(15-18)가 있다. Knee(8)와 Ridge 등(19)은 연화중에 세포벽 단백질 함량은 감소하고 가용성 단백질 함량은 증가하며, 가용성 단백질은 다량의 hydroxyproline을 함유하고 있다고 보고하였다.

**Gel chromatography에 의한 수용성 단백질의 pattern 변화**

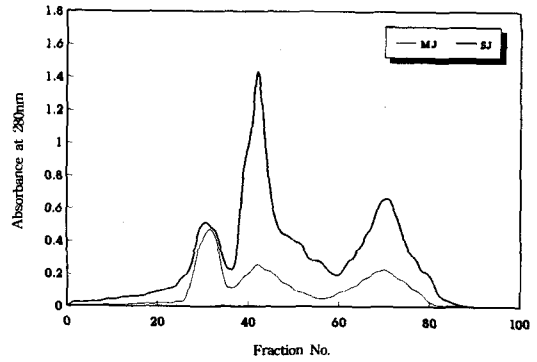
Fig. 1은 완숙감과 연시의 수용성 단백질분획을 Sephacryl S-200 column에 의해 gel filtration하여 얻은 단백질의 chromatogram이다. 완숙감과 연시의 단백질 chromatogram을 상호 비교해 보면, 완숙감의 단백질 분획은 fraction No. 25~50에서 큰 1개의 peak가 존재하였으나, 연시에서는 fraction No. 35~45, 50~60, 60~75에서 3개의 peak가 존재하였다.

Fig. 2는 대추에서 유리된 수용성 단백질의 gel filtration pattern 변화를 도시한 것이다. 완숙대추와 연화대추의 단백질 chromatogram은 다같이 fraction No. 25~35, 35~55, 60~80에서 3개의 peak가 존재하는 유사한 경향을 보였다.

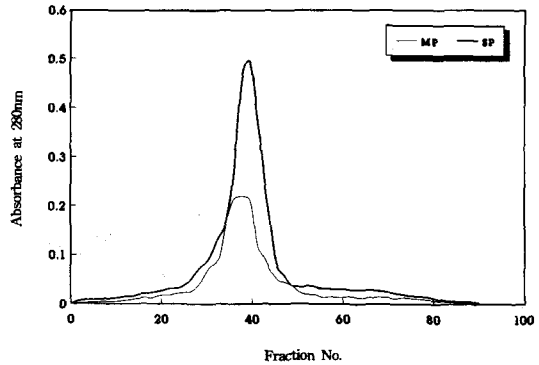
과실은 성숙·연화 중에 새로운 단백질의 합성 및 기존에 존재하던 단백질의 변화로 인해 단백질의 chromatogram pattern이 변화하게 된다(20). Hobson(21)은 과실의 성숙 중에 비대사적인 구조 단백질의 분해와 새로운 단백질의 합성에 따른 단백질의 pattern 변화가 성숙관련 효소의 생성을 초래한다고 했고, Ali와



**Fig. 1.** Elution profile of water-soluble protein extracted from persimmon fruits on Sephacryl S-200 column chromatography.  
Column size, 2×45cm  
Flow rate, 0.22ml/min  
MP, Mature persimmon fruits  
SP, Soft persimmon fruits



**Fig. 2.** Elution profile of water-soluble protein extracted from jujube fruits on Sephacryl S-200 column chromatography.  
Column size, 2×45cm  
Flow rate, 0.22ml/min  
MJ, Mature jujube fruits  
SJ, Soft jujube fruits



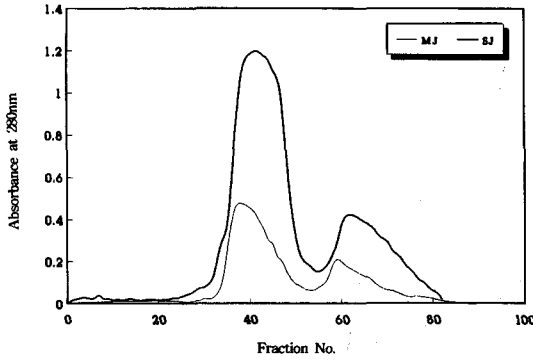
**Fig. 3.** Elution profile of salt-soluble protein extracted from persimmon fruits on Sephacryl S-200 column chromatography.  
Column size, 2×45cm  
Flow rate, 0.22ml/min  
MP, Mature persimmon fruits  
SP, Soft persimmon fruits

Brady(14)도 성숙에 따른 단백질의 gel filtration chromatogram의 pattern변화에 대해 보고하였다.

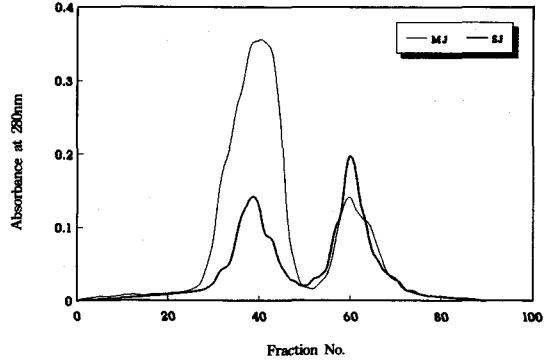
**Gel chromatography에 의한 염가용성 단백질의 pattern 변화**

Fig. 3은 감에서 추출한 염가용성 단백질분획을 Sephacryl S-200 column으로 분리한 chromatogram이다. 연화중에 감의 염가용성 단백질 chromatogram은 fraction No. 25~50사이에서 큰 peak가 존재하는 형태로서 뚜렷한 변화가 없었다.

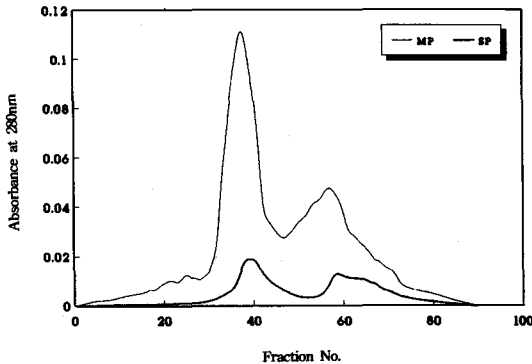
Fig. 4는 대추의 염가용성 단백질분획에서 단백질의 gel filtration chromatogram을 조사한 결과로서, 단백질의 chromatogram은 연화동안에 완숙대추와 연화대



**Fig. 4. Elution profile of salt-soluble protein extracted from jujube fruits on Sephacryl S-200 column chromatography.**  
 Column size, 2×45cm  
 Flow rate, 0.22ml/min  
 MJ, Mature jujube fruits  
 SJ, Soft jujube fruits



**Fig. 6. Elution profile of cell wall-bound protein extracted from jujube fruits on Sephacryl S-200 column chromatography.**  
 Column size, 2×45cm  
 Flow rate, 0.22ml/min  
 MJ, Mature jujube fruits  
 SJ, Soft jujube fruits



**Fig. 5. Elution profile of cell wall-bound protein extracted from persimmon fruits on Sephacryl S-200 column chromatography.**  
 Column size, 2×45cm  
 Flow rate, 0.22ml/min  
 MP, Mature persimmon fruits  
 SP, Soft persimmon fruits

추 모두 fraction No. 40과 60전후에 2개의 peak가 존재했다.

**Gel chromatography에 의한 세포벽 단백질의 pattern 변화**

Fig. 5는 감에서 추출한 세포벽 성분을 *in vitro*에서 polygalacturonase처리한 후 유리된 세포벽 단백질을 Sephacryl S-200 column으로 gel filtration한 chromatogram이다. 세포벽 단백질의 chromatogram은 완숙 감과 연서 모두 fraction No. 38과 58에서 2개의 peak가 존재했다.

Fig. 6은 대추의 세포벽 성분을 *in vitro*에서 polygalac-

turonase 처리하여 유리된 세포벽 단백질의 chromatogram이다. 완숙대추의 경우 fraction No. 30~50에서 큰 peak와 fraction No. 55~70에서 작은 peak가 나타났으나, 연화된 대추에서는 두 peak의 위치는 같으나 peak의 크기가 반대로 나타났다.

Knee(8)와 Hobson 등(11)은 과실의 성숙과 연화 중에 세포벽 단백질이 유리되어 가용성 단백질의 함량은 증가되고 이로 인해 단백질의 chromatogram pattern에 많은 변화가 일어난다고 보고하였다. 또한 신 등(16)은 단감의 연화시에 가용성 단백질의 함량이 증가하며 gel chromatography와 전기영동을 통하여 이들이 세포벽에서 유리된 세포벽 단백질이라는 것을 확인하였다.

이상의 결과를 종합해 볼 때, 감과 대추의 연화동안에 세포벽 단백질 chromatogram에서 단백질 함량이 감소하는 peak부분은 수용성과 염가용성 단백질분획에서 단백질 함량이 증가하는 peak부분과 거의 동일한 fraction에 존재하므로, 두 과실의 세포벽 단백질은 연화중에 수용성 및 염가용성 단백질로 유리되는 것으로 생각된다.

**요 약**

과실의 성숙·연화동안에 단백질의 변화에 대해 연구하고자 완숙·연화된 감과 대추에서 용해성에 따라 추출한 수용성 단백질, 염가용성 단백질 및 세포벽 단백질의 함량 변화와 각 단백질의 gel filtration chromatogram의 pattern 변화를 조사하였다. 두 과실의 수용

성 단백질은 완숙감과 대추에서 각각 98.2, 117.1mg/100g-fr.wt.이었으며, 연화된 감과 대추에서는 각각 112.6, 183.4mg/100g-fr.wt.로 과실의 연화에 따라 증가하였다. 열가용성 단백질도 감의 경우 완숙감에서 51.7mg, 연지에서 133.2mg/100g-fr.wt.로 증가하였고, 대추의 경우에도 완숙·연화 대추 각각 101.8, 139.5mg/100g-fr.wt.로 현저한 증가를 보였다. 이에 반해 세포벽 단백질 함량은 두 과실 모두 감소하였다. Gel filtration에서 연지의 수용성 단백질 chromatogram은 완숙감에 나타난 1개의 peak 이외에 다소 분자량이 작은 2개의 peak가 함께 존재했으며, 대추의 수용성 단백질은 완숙 대추와 연화 대추 모두 3개의 peak로 존재했다. 열가용성 단백질 및 세포벽 단백질의 gel filtration에서는 완숙·연화 과실에서 거의 유사한 경향의 chromatogram을 나타내었다. 또한 연화된 감과 대추의 세포벽 단백질에서 단백질 함량이 감소하는 fraction은 수용성 및 열가용성 단백질 분획에서 단백질 함량이 증가하는 fraction과 거의 일치하였다.

문 헌

1. 김동연 : 농산가공학. 영지문화사, p.215(1990)
2. Gross, K. C. : Recent developments on tomato fruit softening. *Postharvest News and Information*, **1**, 109 (1990)
3. 신승렬, 송준희, 김순동, 김광수 : 감과실의 성숙과 추숙 중의 세포벽 비섬유성 당당류의 변화. *한국식품과학회지*, **22**, 743(1990)
4. 장경호 : 사과 과실의 연화에 따른 세포벽성분 및 효소 활성의 변화와 수확후 칼슘공급이 저장성에 미치는 영향. 영남대학교 대학원 박사학위논문(1992)
5. Wallner, S. J. and Bloom, H. L. : Characteristics of tomato cell wall degradation *in vitro*. *Plant Physiol.*, **60**, 207(1977)
6. Downs, C. G., Brady, C. J. and Godey, A. : Exopolysaccharide protein accumulates late in peach fruit ripening. *Physiologia Plantarum*, **85**, 133(1992)
7. Hasegawa, S., Maier, V. P., Kaszycki, H. P. and Crawford,

- J. K. : Polygalacturonase content of dates and its relation to maturity and softness. *J. Food Sci.*, **34**, 527(1969)
8. Knee, M. : Soluble and wall-bound glycoproteins of apple fruit tissue. *Phytochemistry*, **14**, 2181(1975)
9. Strand, L. L., Rechteris, C. and Mussell, H. : Polygalacturonase release cell wall-bound proteins. *Plant Physiol.*, **58**, 722(1976)
10. Ishii, S. : Analysis of the components released from potato tuber tissues during maceration by pectolytic enzymes. *Plant Physiol.*, **62**, 586(1978)
11. Hobson, G. E., Richardson, C. and Gillham, D. J. : Release of protein from normal and mutant tomato cell walls. *Plant Physiol.*, **71**, 635(1983)
12. Jarvis, M. C. : The preparation of calcium-bond pectin in plant cell walls. *Planta*, **154**, 344(1982)
13. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. : Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265(1951)
14. Ali, Z. M. and Brady, C. J. : Purification and characterization of the polygalacturonase of tomato fruits. *Aust. J. Plant Physiol.*, **9**, 155(1982)
15. 김미현 : 복숭아 품종과 숙도에 따른 세포벽 성분, 효소 활성 및 조직의 변화. 영남대학교 대학원 석사학위논문(1990)
16. 신승렬, 김주남, 김순동, 김광수 : 감과실의 성숙과 추숙 중의 열가용성 및 세포벽 단백질의 변화. *한국농화학회지*, **34**, 32(1991)
17. Brady, C. J., Palmer, J. K., O'connell, P. B. H. and Smillie, R. M. : An increase in protein synthesis during ripening of the banana fruit. *Phytochemistry*, **9**, 1037 (1970)
18. Themmen, A. P. N., Tucker, G. A. and Grierson, D. : Degradation of isolated tomato cell walls by purified polygalacturonase *in vitro*. *Plant Physiol.*, **69**, 122(1982)
19. Ridge, I. and Osborne, D. J. : Hydroxyproline and peroxidase in cell walls of *Pisum sativum*. *J. Experimental Botany*, **21**, 843(1970)
20. Rattanapanone, N., Speirs, J. and Grierson, D. : Evidence for change in messenger RNA content related to tomato fruit ripening. *Phytochemistry*, **17**, 1485(1978)
21. Hobson, G. E. : Electrophoretic investigation of enzymes from developing (*Lycopersicon Esculentum* Fruit). *Phytochemistry*, **13**, 1383(1974)

(1996년 10월 27일 접수)