

사과의 성숙에 따른 Pectin질의 변화

김영지 · 김창식*

영남공업전문대학 식품영양과

*동국대학교 공과대학 식품공학과

(1988년 1월 21일 접수)

Changes in the Pectic Substance during Maturity of Apple

Yeung-Ji Kim and Chang-Sik Kim*

Dept. of Food Science and Nutrition, Yeungnam Junior College of Technology, Taegu 705-037, Korea

*Dept. of Food Technology, Dongguk University, Seoul 100-273, Korea

(Received January 21, 1988)

Abstract

The changes of methoxy content, compositional sugars, degree of esterification (DE) and pectic substances such as LMP (low methoxy pectin), HMP (high methoxy pectin), IAP (ionically associated pectin) and CBP (covalently bounded pectin) of *Fuji* apple were investigated during maturity. The contents of LMP+HMP and IAP+CBP in alcohol insoluble solid (AIS) were 70% and 20%, respectively. These pectic substances were increased slightly during maturity. The reductions of hexose and uronic acid were from 20-50% and from 2-4%, respectively, but the increased of pentose was from 1-9% in LMP, HMP, IAP and CBP during maturity of *Fuji* apple.

The galactose was decreased significantly among hexose. Whereas the relative ratio of uronic acid in HMP and CBP was increased.

서 론

Fuji 사과는 맛뿐만 아니라 저장성이 양호하여¹⁾ 최근 우리나라에서도 홍옥, 국광으로부터 품종 교체 작업을 시도하고 있는 실정이다.

그러므로 종전 잼 가공의 이상적인 품종으로 홍옥이 널리 이용되었으나 *Fuji* 사과를 이용한 가공적성 실험도 절실히 요청되기에 이르고 있다. 또 잼은 pectin질의 함량과 성질, 산 함량 등이 중요시되며 이러한 성질상의 차이에 따라 설탕의 첨가량에도 영

향을 미친다.²⁾

본 연구에서는 *Fuji* 과실을 이용한 저당잼 제조를 위한 기초적 연구로서 과실의 성숙 정도에 따른 pectin질의 변화를 실험하였다. 특히 pectin 질은 middle lamella에 주로 존재³⁾ 하지만 세포벽을 구성하는 각종 다당류와 연결되어 있다⁴⁾는 점을 고려하여 middle lamella pectin의 주를 이루는 LMP (low methoxy pectin)와 HMP (high methoxy pectin) 및 세포벽 구성 pectin으로 구분하여 이들을 구성하는 성분들의 속도에 따른 차이점을 고찰하였다.

재료 및 방법

1. 재료

Fuji 사과(*Malus pumila* Miller f. *Fuji*)는 경북 경산군에서 생산된 것으로써 덜익은 것(수확 1개월전)과 익은 것(수확 직후)으로 구분하여 사용하였다.

2. Pectin질의 추출과 분획

1) AIS로부터 LMP, HMP의 추출

유등⁵⁾의 방법에 따라 과실조직 100g을 세절, 99% ethanol 400ml를 가하여 역류냉각관을 부착하여 15분간 비등시킨 후 Büchner 깔대기로 여과, 70% 열 ethanol 300ml에 현탁, 여과하는 것을 3회 반복하여 불순물을 모두 제거하였다. 다시 99% ethanol 300ml로 세정, 여과한 후 40°C의 감압 건조기(30mmHg 이하)에서 24시간 동안 건조하여 AIS(alcohol insoluble solid)를 얻었다.

LMP(low methoxy pectin)는 AIS 1g을 증류수로 3회 반복 세정하여 수용성 물질을 제거한 후 4%의 sodium hexametaphosphate 용액 25ml로써 20°C에서 2시간 동안 현탁하고 여과액을 membrane tubing으로 투석, 동결건조하여 얻었다.

HMP(high methoxy pectin)는 4%의 sodium hexametaphosphate 용액의 불용성 잔사에 IN HCl 10ml를 가하고 증류수를 200ml가 되게 가하여 역류냉각관을 부착 비등수욕 속에서 1시간 동안 가열한 후 여과하였다. 여과액은 동일방법으로 투석, 동결건조하여 HMP로 하였다.

2) 조세포벽으로부터 IAP와 CBP의 추출

Selvendran⁶⁾ 및 Jarvis 등⁷⁾의 방법에 준하여 사과조직 100g을 200ml의 20mM HEPES(N-2-hydroxyethylpiperazine-N'-2-ethanesulfonic acid)-NaOH 용액(pH 6.9)으로 Waring Blender를 사용하여 균질화 시킨 후 Miracloth로 여과하고, mg/ml의 α -amylase를 함유하는 20ml의 HEPES-NaOH 용액에 현탁 toluene 1방울을 가하여 37°C에서 24시간 둔 후 여과하였다. 잔사는 다시 HEPES 용액에 현탁 여과하는 조작을 3회 반복하여 세정한 후 chloroform-methanol(1:1, v/v) 용액에 1시간

동안 현탁하여 지용성 물질을 제거하였으며 다시 acetone으로 3회 세정, P₂O₅가 들어있는 감압건조장치에서 37°C에서 7일동안 건조시킨 것을 조세포벽으로 하였다. 조세포벽으로부터 IAP(ionically associated pectin)의 분획은 Jarvis 등⁷⁾과 Jarvis⁸⁾ 및 Gross와 Wallner⁹⁾의 방법에 따라 조세포벽 1g에 50mM의 CDTA(trans-1, 2-diaminocyclohexane-N,N,N', N' - tetraacetic acid)를 함유하는 50mM의 Na-acetate 완충용액(pH 6.5) 100ml를 가하여 25°C에서 6시간 동안 추출하고 잔사를 동일한 완충용액으로 반복 추출, 추출액을 모아서 membrane tubing에 넣어 1일 1회 증류수를 교환하면서 4°C에서 72시간 동안 투석, 동결건조하여 IAP로 하였다.

CBP(covalently bounded pectin)는 IAP를 추출하고 남은 잔사에 2mM의 CDTA를 함유하는 50mM의 Na₂CO₃ 100ml를 가하여 4°C에서 20시간, 25°C에서 1시간 동안 현탁, 여액을 상기와 같은 방법으로 투석, 동결건조하여 CBP로 하였다.

3. Methoxyl 함량과 DE의 측정

Joslyn¹⁰⁾ 및 Owens 등¹¹⁾의 방법에 따라 pectin 질 시료 50mg에 20ml의 증류수를 가하여 water bath 상에서 완전히 용해시킨 후 0.25N NaOH 25ml를 첨가하여 40°C에서 2시간 동안 분해시켰다. 다음에 0.25N HCl 25ml를 가하여 혼합한 후 0.1N NaOH로 적정하여 methoxyl 함량과 DE(degree of esterification) 퍼센트를 산출하였다.

4. Hexose, Pentose 및 Uronic acid 함량의 측정

Updegraff¹²⁾ 및 Jones와 Albersheim¹³⁾의 방법에 준하여 pectin질 10mg에 2N TFA(trifluoroacetic acid) 용액 3ml를 가하여 120°C에서 1시간 동안 autoclaving하여 분해시킨 후 2N NaOH 용액으로 중화하여 측정용 시료로 하였는데 hexose는 Anthrone 법,¹⁴⁾ pentose는 Orcinol 법,¹⁵⁾ uronic acid는 Carbazole 법에 의하여 측정하였다. 검량선은 다음과 같다.

$$\text{Hexose } (\mu\text{g}/0.5\text{ml}) = 206,186 \times \text{OD}_{620} + 0,928$$

$$\text{Pentose } (\mu\text{g}/4\text{ml}) = 471,698 \times \text{OD}_{530} - 4,245$$

$$\text{Uronic acid } (\mu\text{g}/0.5\text{ml}) = 202,020 \times \text{OD}_{620} - 8.7273$$

5. Pectin질 구성 중성당의 측정

Jones 와 Albersheim¹³⁾의 방법에 따라 pectin질 시료 10mg 과 2N TFA 5ml 를 시험관에 넣은 후 sealing 한 후 120°C에서 1시간 동안 autoclaving 하고 Lehrfeld¹⁶⁾의 방법에 준하여 aldonitrile acetate 유도체로 만든 후, Gross¹⁷⁾의 방법에서와 같이 내부 표준물질로써 myo-inositol 을 사용, capillary gas chromatography 를 행하였다.

결과 및 고찰

1. Pectin질의 함량과 속도에 따른 변화

Pectin질은 galacturonic acid 가 α -1,4 결합으로 연결된 다당류¹⁸⁾로서 세포와 세포를 연결시켜 조직을 형성케 하는 주요한 물질이다. 또 galacturonic acid 가 methyl ester 된 정도에 따라 저 methoxy pectin 과 고 methoxy pectin 으로 구분하는데 용해성에 큰 차이를 나타내기도 한다.¹⁹⁾

일반적으로 pectin 은 polygalacturonic acid 골격에 galactose 나 rhamnose, arabinose 가 중합된 hemicellulose 측쇄가 연결되어 있으므로²⁰⁾ 사과 과채물을 여과할 때 잔사에 많이 남게 된다. 이와 같은 각종 성질을 구명하기 위해서는 middle lamella에 존재하는 pectin 과 세포벽을 구성하는 pectin 을 구분

하여 분획하는 것이 바람직하지만 이를 시도한 연구는 매우 적은 실정이다.

Table 1의 결과에서 AIS는 조직내에 거의 모든 pectin질을 함유한다고 볼 수 있으나 AIS로부터 추출한 LMP와 HMP의 합계치가 미숙과가 1048mg/100g f.w, 완숙과가 1062mg/100g f.w로 각각 448mg과 446mg의 차이가 생긴다.

이같은 현상은 AIS 속에 존재하는 세포벽 구성 pectin질이 4% sodium hexametaphosphate나 IN HCl에 용해 추출되지 않음을 의미한다. 따라서 AIS로부터 추출한 LMP와 HMP는 middle lamella pectin이라 할 수 있고 세포벽 구성 pectin은 별도의 방법에 의하여 추출되어야 할 것이다.

Jarvis,⁸⁾ Gross 와 Walner⁹⁾는 각각 세포벽으로부터 IAP와 CBP를 거의 완전히 추출하여 정량하고 있으므로 이 방법에 준하여 측정된 결과(Table 1)로 미루어 보면 middle lamella pectin은 완숙과의 경우 AIS의 70%, 세포벽 pectin은 AIS의 20%에 달한다고 할 수 있고 성숙됨에 따라 AIS에 차지하는 pectin질의 비율이 세포벽 쪽에서 약 2% 증가함을 볼 수 있다.

또 각 pectin질의 함량은 미숙과보다 완숙과에서 다소 증가하였는데 이것은 Sinclair,²¹⁾ Pressey 등²²⁾결과와 일치한다.

2. Methoxyl함량과 DE의 변화

Fuji 과실의 속도에 따른 methoxyl 함량과 DE

Table 1. Changes in the content of Fuji pectic substance during maturity

	Maturity	
	Unripened	Ripened
AIS (mg/100g f.w)	1496	1528
LMP (mg/100g f.w)	690	700
HMP (mg/100g f.w)	358	362
Cell Wall IAP (mg/100g f.w)	81	84
Cell Wall CBP (mg/100g f.w)	189	210

Abbreviations: AIS; alcohol insoluble solid, LMP; low methoxy pectin, HMP; high methoxy pectin, IAP; ionically associated pectin, CBP; covalently bounded pectin.

의 변화를 측정한 결과는 Table 2 에서와 같다.

Methoxyl 함량은 IAP와 CBP의 경우는 7.50~8.80 범위로 HMP의 10.65~12.73 보다 낮은 값을 보였고 LMP는 7.20 을 나타내었다. 성숙에 따라 전반적으로 증가하여 문등²³⁾의 결과와 일치하였다.

또 DE의 경우도 같은 양상을 보이고 있으며 LMP는 44%, HMP는 64~78%, IAP는 43~46%, CBP는 50~54%를 나타내었다.

3. Pectin질의 당조성 변화

Pilnic 과 Vorgen,²⁰⁾ Darvill 등²⁴⁾은 pectin 질의 골격에 hemicellulose의 측쇄가 연결되어 있다고 보고하였고, 사과와 hemicellulose에 uronic acid의 함

유율이 높게 나타나는 결과에서도 이러한 사실을 입증할 수 있다.

Pectin질을 구성하는 total sugar의 함량과 uronic acid 함량을 측정한 결과(Table 3)에서 보면 성숙에 따라 hexose는 LMP, HMP, IAP, CBP 모두에서 20~50%까지 감소하였고 pentose는 1~9%까지 증가하였으며 uronic acid는 2~4%까지 감소하였다.

그러나 pectin질을 구성하는 uronic acid의 상대적 비율은 LMP에서는 다소 감소하는 경향을 나타내었으나 HMP, IAP, CBP에서는 증가하였고 특히 CBP에서는 약 5%의 증가를 나타내었다.

이와 같은 현상은 CBP에 연결된 hemicellulose 중 hexose로 구성된 성분의 분해가 성숙과 더불어

Table 2. Changes in methoxyl content and esterification degree of *Fuji* pectin.

	Pectic Substance			
	LMP	HMP	IAP	CBP
Methoxyl Content I	7.20	10.65	7.50	8.35
(%) II	7.19	12.73	7.61	8.80
Esterification I	44.20	64.02	43.00	50.04
Degree (%) II	44.06	78.00	46.63	53.92

* Maturity: I, Unripened II, Ripened

Table 3. Changes in the sugar compositions of the *Fuji* pectic substance

	Hexose	Pentose	Uronic Acid
LMP ($\mu\text{g}/10\text{mg AIS}$) I	87.5	680.3	1200.8
II	62.0	724.5	1152.3
HMP ($\mu\text{g}/10\text{mg AIS}$) I	1856.2	1800.4	5320.0
II	1236.3	1954.6	5210.8
IAP ($\mu\text{g}/10\text{mg CW}$) I	1303.5	890.5	3050.1
II	1086.7	944.1	2949.6
CBP ($\mu\text{g}/10\text{mg CW}$) I	1957.3	1720.4	5011.4
II	1208.0	1742.0	4920.3

* Maturity : I, Unripened, II, Ripened

Table 4. Changes in sugar compositions of Fuji AIS during maturity

	Total NS	Neutral Sugars (mg/100 g AIS)						
		Rha	Fuc	Ara	Xyl	Man	Glu	Gal
Unripened	47.0	2.6	0.4	16.4	7.4	1.3	2.8	16.2
Ripened	38.4	2.9	0.6	17.0	8.6	1.0	2.3	6.0

Abbreviations : AIS, alcohol insoluble solid; NS, neutral sugar; Rha, rhamnose; Fuc, fucose; Ara, arabinose; Xyl, xylose; Man, mannose; Glc, glucose; Gal, galactose.

활성화 됨을 뜻한다. 이를 구성하는 중성당을 gas chromatography에 의하여 측정해 본 결과(Table 4) Rha, Fuc, Ara, Xyl, Man, Glu, Gal의 7종이 동정되었고 pentose로는 Ara가 hexose로는 Gal의 함량이 각각 16.3, 16.2 mg/100 g AIS로 가장 많았고 성숙에 따라 pentose도 8%가 증가되었으나 hexose는 54%가 감소되었는데 그 중에서도 Gal의 감소가 현저하였다.

요 약

Fuji 과실의 성숙에 따른 pectin 질의 변화를 조사하기 위하여 LMP (low methoxy pectin), HMP (high methoxy pectin), IAP (ionically associated pectin), CBP (covalently bounded pectin), methoxyl 및 구성당의 함량변화와 DE (degree of esterification)를 조사하였다.

그 결과 LMP + HMP와 IAP + CBP는 AIS (alcohol insoluble solid)의 각각 70%, 22%를 차지하였고 이들 성분은 성숙에 따라 다소 증가하였다.

Pectin질을 구성하는 중성당중 hexose는 LMP, HMP, IAP, CBP 다같이 20~50%가 감소하였는데 특히 Gal의 감소율은 63%이었다.

Pentose는 1~9%가 증가하였고 uronic acid는 2~4% 감소하였다. 그러나 HMP, CBP에서는 uronic acid의 상대적 함유비율은 3~5% 증가되었다.

문 헌

1. 이광연, 김종천, 고광철 외 13명 : **신고 과수 원예**, 향문사, 서울, 28 (1978).
2. 이만정 : **식품가공저장학**, 동명사, 서울, 109-115 (1986).
3. Tinay, A.H.E., Saeed, A.R. and Berdi, M. F.: *J. Food Tech.*, **14**, 343 (1979).
4. Rouau, X. and Thibault, J.F.: *Carbohydrate Polymers*, **4**, 111-125 (1984).
5. 육철, 장금, 박관화, 안승요 : **한국식품과학회지**, **17**, 447-453 (1985).
6. Selvendran, R.R.: *Phytochem.*, **14**, 1011-1017 (1975).
7. Jarvis, M.C., Hall, M.A., Thelfall, D.R. and Friend, J.: *Planta.*, **152**, 93-100 (1981).
8. Jarvis, M.C.: *Planta.*, **154**, 334-346 (1982).
9. Gross, K.C. and Walner, S.J.: *Plant Physiol.*, **63**, 117-120 (1979).
10. Joslyn, M.A.: *Advan. Food Res.*, **11**, 1-107 (1962).
11. Owens, H.S. et al : **Methods used at Western Regional Research Laboratory for Extraction and Analysis of Pectic Materials**, U. S. Dept. Agr., Bur. Agr. Ind. Chem., (1952).
12. Updegraff, D.M.: *Anal. Biochem.*, **32**, 420-424 (1969).

13. Jones, T.M. and Albersheim, P.: *Plant physiol.*, **49**, 926-936 (1972).
14. Spiro, R.G.: Analysis of sugars found in glycoprotein, In *Method in Enzymology*, Vol. 8, Academic press, New York, 4 (1966).
15. 윤일섭, 김중화, 오태섭, 홍영식: 정성정량분석, 형설출판사, 서울, 82 (1982).
16. Lehrfeld, J.: *Anal. Biochem.*, **115**, 410-418 (1981).
17. Gross, K.C.: *Phytochem.*, **22**, 1137-1139 (1983).
18. Meyer, L.H.: *Food Chemistry*, Reinhold Book Cooperation, 87-95 (1960).
19. Anderle Beck, C.Z.R.: *Food Chemistry and Nutritional Biochemistry*, John Wiley and Sons, Inc. U.S.A., 369-374 (1985).
20. Pilnic, W. and Voragen, A.G. J.: In *The biochemistry of fruits and their products*, ed. A.C. Hulme, Vol.1, New York, Academic press, 53-87 (1960).
21. Sinclair, W.B. and Joliffe, V.A.: *J. Food Sci.*, **26**, 125 (1961).
22. Pressy, R., Hinton, D.M. and Avants, J. K.: *J. Food Sci.*, **36**, 1070 (1981).
23. 문수재, 손경희, 윤선, 이명희: *대한가정학회지*, **19**(4), 33-39 (1981).
24. Darvill, A., Mcneil, M., Albersheim, P. and Delmer, D.P.: In *Biochemistry of Plants*, ed. N.E. Colbert, Vol.1, New York and London Academic Press, 101-106 (1980).