

## 成熟中 Tomato 果實의 $\beta$ -Galactosidase의 活性變化와 그 特性

權相五 · 文廣德 · 孫泰華

慶北大學校 農科大學 食品工學科

The Activity Changes and Properties of  $\beta$ -Galactosidase  
in Ripening Tomato Fruits

Kweon, Sang Oh · Moon, Kwang Deok · Sohn, Tae Hwa

Dept. of Food Science and Technology, Coll. of Agric.,  
Kyungpook Natl. Univ.

### Summary

The activity changes and biochemical properties of  $\beta$ -gal in tomato fruits during ripening were investigated.

The total activity was increased during ripening and three isoenzymes ( $\beta$ -gal I, II and III) were purified through DEAE Sephadex A-50 and Sephadex G-100 column chromatography.

The activities of  $\beta$ gal isoenzymes ( $\beta$ -gal I, II and III) during ripening were 69.8, 31.8 and 170.0 units in mature green phase, while those were 48.7, 88.4 and 136.8 units in Red phase, respectively.

As the ripening proceeded the activities of  $\beta$ -gal I and III were some what decreased but the activity of  $\beta$ -gal II was increased more than 2.8 fold.

The optimum pH of  $\beta$ -gal I, II and III were 3.9, 4.2 and 3.9 and the optimum temperature of those were 60°C, 56°C and 60°C, respectively.

All isoenzymes were stable at pH 3.6~6.0 and lost their activity about 50% when it heated at 55°C for 5 minute.

Mg<sup>2+</sup> activated the three isoenzymes but Ca<sup>2+</sup> and SDS inhibited about 30~40%. Hg<sup>2+</sup> inhibited completely.

The km value of  $\beta$ -gal I, II and III was 0.36mM, 0.63mM and 0.45mM, reaction rate was rapidly increased until the concentration of substrate was  $6.0 \times 10^{-3}$ M.

### 서 론

과실의 연화현상은 <sup>2,3,14</sup> 수확 후 유통과정에서 부패에 대한 저항력을 감소시키며 식미의 저하등을

가져와 과실의 상품적 가치를 현저히 떨어뜨리는 요인이 된다. 이러한 연화현상은 여러 세포벽 분해 효소에 의한 세포벽 분해의 매우 복잡한 과정<sup>2)</sup>이며 특히 토마토는 성숙이 진행됨에 따라 그 성숙

말기에 이르러 급격히 연화하는 대표적인 과실이다, 이러한 연화의 정도는 세포벽 구성다당류의 크기 및 branch 정도, 수소결합정도, 수소이온농도 및 칼슘등의 영향을 받는 것으로 알려지고 있다.<sup>7,16,21)</sup>

세포벽 구성다당류의 분해효소로는 poly galacturonase (P.G)<sup>2,27,30,33)</sup> cellulase,<sup>1,12,24)</sup> pectinmethylesterase (P.E)<sup>11)</sup> 및  $\alpha, \beta$ -galactosidase<sup>5,6,26)</sup> 등이 있으며 pectic polysaccharides의 분해효소로 알려져 있는 PG 및 PE에 대해서는 비교적 많은 연구가 이루어져 있다. 그러나 연화중 세포벽에서의 비섬유성중성당의 변화중 가장 뚜렷한 galactose의 감소와<sup>9,10,17)</sup> 연관이 있을 것으로 여겨지는  $\beta$ -galactosidase ( $\beta$ -galactoside galactohydrolase, EC 3,2,1, 23, 이하  $\beta$ -gal라 함)에 대해서는 pressey<sup>25)</sup>와 Waller<sup>32)</sup>가 토마토로부터, Bartely<sup>3)</sup>가 사과로부터 그리고 Komno<sup>8)</sup>가 당근으로부터 각각  $\beta$ -gal를 분리한것등 몇몇 연구를 제외하고는 이 효소의 자세한 isoenzyme의 변화나 생화학적 특성에 관한 연구는 아직까지 거의 없는 실정이다.

따라서 본 연구는 성숙 중 토마토 과실의 연화와 연관되는 여러 효소중의 하나인  $\beta$ -gal를 분리 정제하였으며 각 isoenzyme의 생화학적 특성에 관하여 실험하여 얻은 바 결과를 이에 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 공시재료

본 실험에 사용한 토마토는 대구시 동구 지저동 소재 농원에서 노지재배한 품종 “豊農”을 개화 후 미숙기(Mature green phase), 수확적기(Turning phase), 식용적기(Pink phase) 및 과숙기(Red phase)의 성숙 단계별로 수확하여 이를 공시재료로 사용하였다.

### 실험방법

#### 효소액의 조제

효소액의 조제는 pressey<sup>25)</sup>의 방법에 따라 Fig. 1과 같이 실시하였다. 즉 시료일정량을 균질화한 후 최종농도가 1.0M이 되게 NaCl을 가하고 0.5M-NaOH로서 PH6.0으로 맞춘 후 원심분리하였다. 상등액을 염색시키고 원심분리하여 침전물을 증류수에 용해시켜 0.15M-NaCl용액에서 48시간 투석하였다. 이를 다시 12,000g에서 15분간 원심분리하여 그 상등액을 조효소액으로 하였다.

#### Pericarp tissue

added 700ml cold water

#### homogenized

stirred for 30 min.

added solid NaCl to a final concentration of 1.0M

adjusted to pH 6.0 with 0.5 M-NaOH

stirred for an additional 3 hr.

centrifuged (8,000 g × 20 min.)

supernatant

precipitation

85 % saturation solution of ammonium sulfate

centrifuged (12,000 g × 15 min.)

precipitation

supernatant

solubilized to 20 ml distilled water

dialyzed 0.15 M-NaCl for 48hr.

centrifuged (10,000g × 15 min.)

supernatant

precipitation

crude enzyme

Fig. 1. The extraction procedure of  $\beta$ -galactosidase in tomato fruits.

#### 효소의 분리과 정제

효소의 분리과 정제는 50mM-sodium acetate buffer(pH6.0)으로 평형화시킨 DEAE-Sephadex A-50 column chromatography(2.5×60cm)에 조효소액 10

mℓ를 주입한 다음 linear gradient로 시간당 35mℓ의 유속으로 10mℓ씩 분획하였으며 분획한 효소액을 동결건조한 후 10mℓ의 0.15M-NaCl로 평형화시킨 Sephadex G-100 Column chromatography (2.5×75 cm)에 주입시킨 다음, 시간당 18mℓ의 유속으로 7mℓ씩 분획하였다.

효소의 활성 측정 및 단백질 정량

효소의 활성도 측정은 기질인 P-nitrophenyl- $\beta$ -galactoside를 가수분해하는 정도로 나타내었다. 즉 mℓ당 2mg의 기질을 함유하는 10mM Sodium acetate buffer(pH4.0) 100  $\mu$ ℓ에 0.2% BSA(Bovine Serum albumin Sigma제) 300  $\mu$ ℓ와 10mM Sodium acetate buffer(pH4.0) 50  $\mu$ ℓ를 잘 혼합한 후 효소액 100  $\mu$ ℓ를 가하여 37°C, 15분간 반응시킨 다음 200 mM Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 2mℓ를 가하여 반응을 정지시키고 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 활성도는 30°C에서

15분간 1mM의 기질을 분해하는 효소량을 1unit로 하였다. 단백질 함량은 Bradford의 방법<sup>4)</sup>에 따라 측정하였으며 이때 표준물질로는 Bovine Serum albumin(sigma 제)를 사용하였다. 그리고 chromatogram상의 protein은 280nm에서의 흡광도를 표시하였다.

## 결 과

효소의 분리와 정제

효소의 분리와 정제를 위하여 조효소액을 DEAE-Sephadex A-50 column chromatography한 결과는 Fig.2와 같으며 두개의 활성 peak(A: 20~30번, B: 31~42번)를 얻었으며, 이들 peak A와 B를 다시 각각 Sephadex G-100 column chromatography한 결과 Fig.3과 같이 peak A는 두개의 활성 peak(A-I: 20~29번, A-II: 31

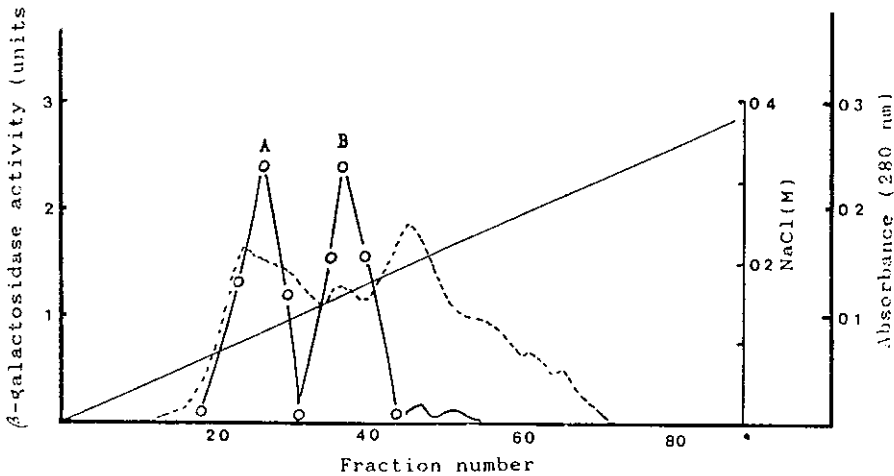


Fig. 2. Elution profile of  $\beta$ -galactosidase activity extracted from ripened tomato fruits on DEAE-Sephadex A-50 column.

Column size; 2.0×60cm, Flow rate; 35mℓ/hr.

Absorbance at 280nm; -----, Buffer gradient; ———,

$\beta$ -galactosidase activity; ○—○.

~42번)으로 분리되었으나 peak B는 분리되지 않았다. 분리된 활성 peak를  $\beta$ -galactosidase I (A-I),  $\beta$ -galactosidase II (A-II),  $\beta$ -galactosidase III (B)로 하였다.

이로서 토마토에 있어  $\beta$ -gal는 단일 효소가 아닌 3개의 isoenzyme으로 구성되어 있음을 알수 있었으며, 각 효소에 대한 정제도는 Table 1. 과 같다.

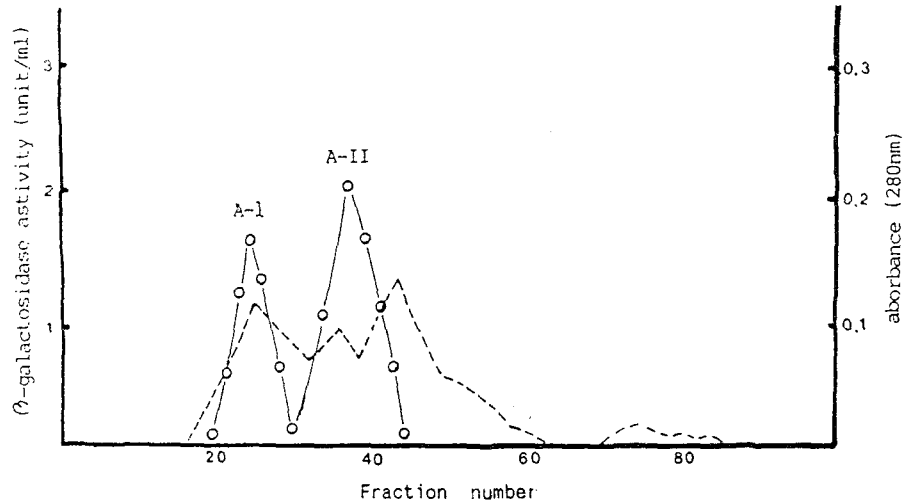


Fig. 3. Elution profile of peak A into two peaks of  $\beta$ -galactosidase activity on Sephadex G-100 column.  
 Column size ;  $2.0 \times 75 \text{ cm}$ , Flow rate ;  $18 \text{ ml/hr.}$ ,  
 Absorbance at  $280 \text{ nm}$  ; -----,  
 $\beta$ -galactosidase activity :  $\circ$ — $\circ$

Table 1. Summary of the purification of  $\beta$ -galactosidase extracted from ripened tomato fruits

| Purification step                   | Parts | Activity (units) | Protein (mg) | Specific Activity (units/mg) | Recovery (%) | Purification (fold) |
|-------------------------------------|-------|------------------|--------------|------------------------------|--------------|---------------------|
| 85% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$    |       | 389.0            | 86.0         | 4.5                          | 100.0        | 0                   |
| Pellet $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ |       |                  |              |                              |              |                     |
| DEAE-Sephadex                       | E-I   | 134.4            | 15.2         | 8.8                          | 34.5         | 1.9                 |
| A-50 Column                         | E-II  | 134.4            | 15.2         | 8.8                          | 34.5         | 1.9                 |
|                                     | E-III | 152.8            | 19.0         | 8.0                          | 29.2         | 1.8                 |
| Sephadex                            | E-I   | 46.2             | 2.4          | 19.2                         | 11.8         | 4.2                 |
| G-100 Column                        | E-II  | 82.6             | 1.4          | 59.0                         | 21.2         | 13.6                |
|                                     | E-III | 105.8            | 3.6          | 29.3                         | 27.2         | 7.3                 |

$\beta$ -gal I, II 및 III의 비활성도는 각각 19.2 units/mg, 59.0units/mg 및 29.3units/mg이었으며, 정제도는 4.6배, 13.6배 그리고 7.3배였다.

$\beta$ -gal의 활성변화  
성숙단계에 따른 조효소액과 분리 정제한  $\beta$ -gal의 활성변화를 측정한 것은 Table 2. 과 같다.

Table 2. The activity changes of total enzyme and  $\beta$ -galactosidase isoenzymes in tomato fruits during ripening

| Stage | Total activity | $\beta$ -galactosidase |      |       |
|-------|----------------|------------------------|------|-------|
|       |                | I                      | II   | III   |
| MP    | 363.3          | 59.8                   | 31.8 | 170.8 |
| TP    | 373.3          | 54.9                   | 38.7 | 165.1 |
| PP    | 389.0          | 46.4                   | 81.6 | 134.1 |
| RP    | 385.0          | 48.7                   | 88.4 | 136.8 |

MP : Mature green Phase

TP : Turning Phase

PP : Pink Phase

RP : Ripening Phase

one unit of activity is expressed as '1mM of p-nitrophenyl  $\beta$ -galactoside degraded/15min. at 37 C.

조효소액은 MP는 363.6 units, PP는 389.0 units로서 성숙이 진행됨에 따라 큰 차이가 없었으며 전 구간에 걸쳐 활성을 강하게 띠고 있었다.

3개의 isoenzyme 중  $\beta$ -gal III은 MP에서는 170.8units로서 활성이 가장 강하였으나 성숙이 진행되면서 136.8units로 감소되었으며,  $\beta$ -gal II는 MP 31.8units에서 RP에서는 88.4units로서 2.8배정도 증가하였다.

효소의 제특성

최적 pH

토마토에 있어서  $\beta$ -gal의 isoenzyme의 최적pH는 Fig. 4. 와 같다. 이때 pH는 3.0~6.0까지는 Citrate buffer, pH 6.0~8.0까지는 Sodium acetate buffer를

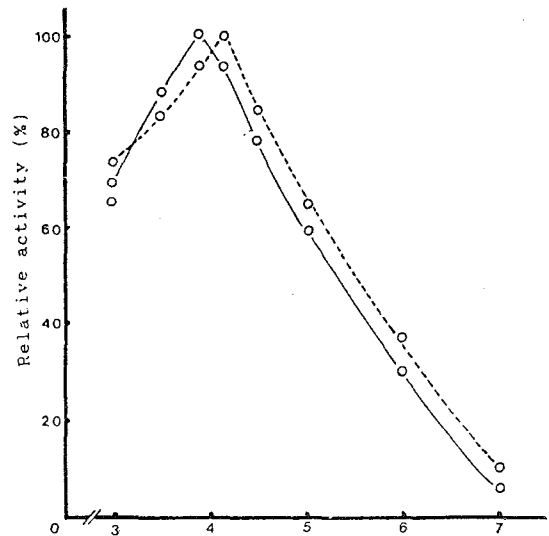


Fig. 4. Effects of pH on the activities of  $\beta$ -galactosidase isoenzymes.

○—○ :  $\beta$ -galactosidase I, II

○.....○ :  $\beta$ -galactosidase III

사용하였다.  $\beta$ -gal I, II, 및 III의 최적pH는 각각 3.9, 4.2, 3.9에서 최대활성을 나타내었다.

#### 최적온도

효소의 최적온도를 알아보기 위하여 pH4.0으로 조절한 반응액의 온도를 20~80°C로 조정하여 각 효소의 활성에 미치는 온도의 영향을 조사한 결과는 Fig. 5와 같다.

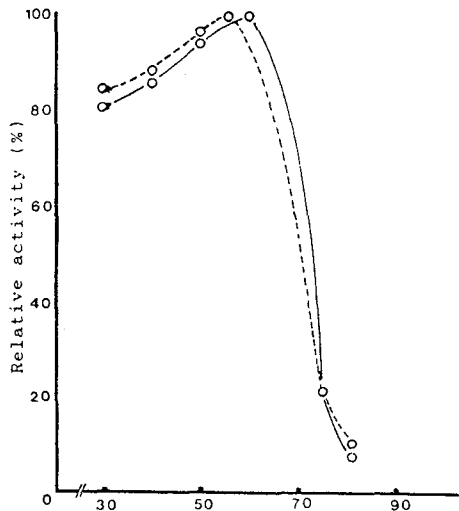


Fig. 5. Effects of Temp. on the activities of  $\beta$ -galactosidase isoenzymes.

○—○ :  $\beta$ -galactosidase I, III  
○---○ :  $\beta$ -galactosidase II

$\beta$ -gal의 isoenzyme간 최적온도는 I, II, 및 III 각각 60°C, 55°C, 60°C이다.

#### pH안정성

효소는 pH안정성은 pH3.0~9.0으로 조절한 반응액을 50°C에서 5분간 가열한 후 그 잔존효소활성을 측정하였다.  $\beta$ -gal I, II 및 III은 각각 pH5.7, pH5.0, pH5.4에서 각각 최대활성을 띠었으며 pH3.0~6.0에서 isoenzymes 공히 인정을 유지하였다.

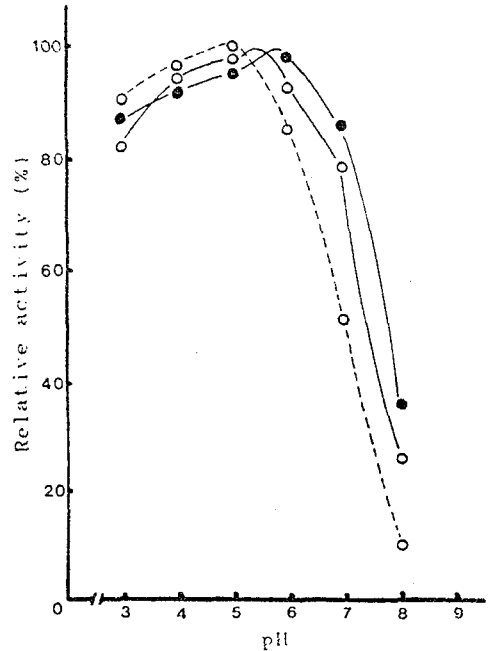


Fig. 6. Effects of pH on the stabilities of  $\beta$ -galactosidase isoenzymes.

●—● :  $\beta$ -galactosidase I  
○---○ :  $\beta$ -galactosidase II  
○—○ :  $\beta$ -galactosidase III

#### 열 안정성

효소의 열 안정성은 pH4.0으로 조절한 반응액을 30~80°C의 각 온도에서 5분간 열처리하여 급냉한 후 기질을 가하여 측정하였다(Fig. 7)

$\beta$ -gal I, II, 및 III은 각각 45°C에서 93.5%, 91.0%, 97.0%로서 거의 안정성을 유지하였으나 이후는 급격히 감소하였다.

#### 금속과 저해제의 영향

효소에 대한 금속이온과 저해제의 영향은 1mM의 금속이온과 10 $\mu$ M의 HgCl<sub>2</sub> 그리고 1mM의 EDTA와 sodium dodecyl sulfate (SDS)등과 100mM의 sodium acetate buffer(pH 4.5)와의 반응액에  $\beta$ -gal I, II alc III을 각각 넣고 5분간 incubation 시킨후 기질을 가하여 조사한 결과는 Table 3과 같다.  $\beta$ -gal의 isoenzymes공히 Cu<sup>++</sup>에 대하여는 27.6%, 36%, 23.8%, SDS에 대하여는 41.4

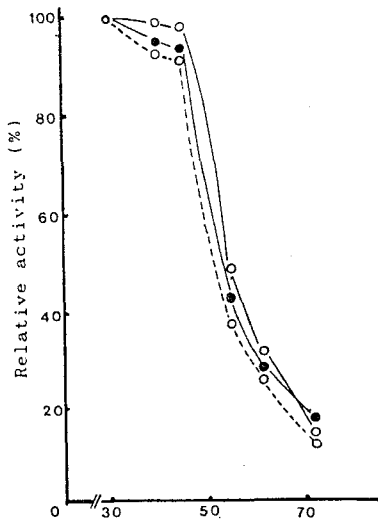


Fig. 7. Effects of Temp. on the stabilities of  $\beta$ -galactosidase isoenzymes.

- :  $\beta$ -galactosidase I
- .....○ :  $\beta$ -galactosidase II
- :  $\beta$ -galactosidase II

%, 47.2%, 42.1%로 저해받았으며  $Hg^{++}$ 에 대하여는 공히 완전저해되었다.

기질에 대한 영향

$\beta$ -gal I, II, 및 III의 기질에 대한 특성을 조사한 결과는 다음과 같다. 즉 p-nitrophenyl- $\beta$ -galactoside의 농도를 변화시켰을 때의 반응속도를 Lineweaver와 Burk가 제시한 double reciprocal plot에 의한 Michaelis-Menten상수를 측정한 결과 각각의  $K_m$ 치는 0.36mM, 0.63mM, 0.45mM이었다.(Fig. 8.)

## 고 찰

성숙 중 토마토 과실의 연화와 관련이 있을 것으로 여겨지는  $\beta$ -gal의 활성변화와 이의 생화학적 특성을 조사하였다. 신선한 토마토 과실로부터 추

Table 3. Effect of various additives on the activities of  $\beta$ -galactosidase isoenzymes extracted from ripened tomato fruits

| Additives         | Final Conc.(M)     | Relative Activity(%) |       |       |
|-------------------|--------------------|----------------------|-------|-------|
|                   |                    | I                    | II    | III   |
| NONE              | —                  | 100.0                | 100.0 | 100.0 |
| CuSO <sub>2</sub> | 1×10 <sup>-3</sup> | 72.4                 | 64.0  | 76.2  |
| CaCl <sub>2</sub> | 1×10 <sup>-3</sup> | 98.0                 | 100.0 | 100.2 |
| MnCl <sub>2</sub> | 1×10 <sup>-3</sup> | 100.0                | 97.0  | 100.0 |
| MgCl <sub>2</sub> | 1×10 <sup>-3</sup> | 105.0                | 106.4 | 105.4 |
| FeCl <sub>2</sub> | 1×10 <sup>-3</sup> | 90.5                 | 98.5  | 100.0 |
| ZnCl <sub>2</sub> | 1×10 <sup>-3</sup> | 97.4                 | 97.8  | 97.0  |
| HgCl <sub>2</sub> | 1×10 <sup>-5</sup> | 0.0                  | 0.0   | 0.0   |
| KCl               | 1×10 <sup>-3</sup> | 98.0                 | 92.0  | 98.5  |
| EDTA              | 1×10 <sup>-3</sup> | 100.0                | 100.0 | 100.0 |
| SDS               | 1×10 <sup>-3</sup> | 58.6                 | 52.8  | 57.9  |
| 2-Mercaptoethanol | 1×10 <sup>-3</sup> | 100.0                | 100.0 | 100.0 |

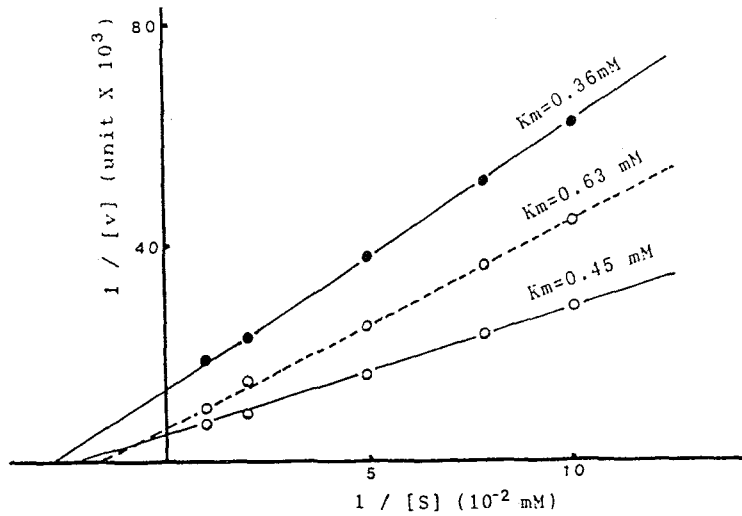


Fig. 8. Lineweaver-Burk plots of  $\beta$ -galactosidase isoenzymes extracted from ripened tomato fruits.

- :  $\beta$ -galactosidase I
- :  $\beta$ -galactosidase II
- :  $\beta$ -galactosidase III

출한 효소액을 분리 정제한 결과  $\beta$ -gal는 3개의 isoenzymes로 구성되어 있었다. 이는 Pressey<sup>25)</sup>의 결과와 유사하였으며, 고추<sup>20)</sup>에서는 4개의 isoenzyme이 존재하였다. 그러나 사과<sup>2)</sup>, 당근<sup>18)</sup>등에서는  $\beta$ -gal가 단일효소로 존재하고 있었다.

Total activity는 wallner와 walker의 결과와는 유사하였다.<sup>31)</sup> 그러나 Gross<sup>8)</sup>는 다소 낮은 활성도를 나타내었으며 이는 동결된 과실과 Citrate buffer에 의한 추출로  $\beta$ -gal의 활성이 저해를 받았기 때문이라고 하였다.<sup>25)</sup>

$\beta$ -gal는 exo-hydrolase로서 citrus pectin으로부터 생성된 세포벽의 galactan과 arabinogalactan을 가수분해하며<sup>2,14,18)</sup> 과실이 성숙되고 연화됨에 따라 활성이 증가한다. 또한 세포벽의 pectin 질을 galactoglucan와 arabinose로 유리시키며 pectin galactan을 분해하므로써 과실의 연화를

촉진시키게 된다.<sup>13,21,32,33)</sup> 한편, 토마토의 연화는 성숙초부터 시작되어 식용적기에 이르러 현저히 나타나는 것으로 알려져 있다.<sup>3)</sup> 토마토의  $\beta$ -gal의 isoenzyme 중  $\beta$ -gal I, III은 성숙함에 따라 감소하였으나  $\beta$ -II는 성숙초에는 적은 양이었으나 식용적기에 이르러 그양이 급격하게 증가함을 보여주고 있으며 이는 Pressey<sup>25)</sup>의 결과와 유사하였다. 이런 점들을 고려해 볼때 Tomato의 연화에는  $\beta$ -gal II가 보다 크게 관여하는 것으로 사료되어진다.

토마토 과육에서 분리한  $\beta$ -gal의 isoenzyme의 특성 중에서  $\beta$ -gal I과 III은 서로 유사하였으나  $\beta$ -gal II는 다소 상이하였다.

최적 PH는  $\beta$ -gal I, II 및 III이 각각 3.9, 4.5, 및 3.9로서 isoenzyme 상호간에 다소 차이가 있으나 감<sup>28)</sup>, 당근<sup>18)</sup>과는 유사하였으며 지금까지 보고되고



있는  $\beta$ -gal의 최적 pH는 시료에 따라 다소 차이가 있으나 PH 3.5~4.5 사이에 존재할 것으로 보여진다.

최적 온도는 papaya 열매<sup>19)</sup>와는 유사하였으나 감<sup>28)</sup>의 45°C보다는 다소 높았다.

토마토로부터 분리한  $\beta$ -gal의 pH와 열안정성에 있어서는  $\beta$ -gal I, II 및 III 공히 pH 3.0~6.0에서 안정하였으며, papaya 열매<sup>19)</sup>는 pH 4.9~9.0, 감<sup>28)</sup>은 PH2.0-6.5, penicillium multicolor<sup>28)</sup>는 pH 3.0~7.5까지 안정하다고 보고된 바 있다. 열에 대한 안정성은 50°C에서 5분간에 50%의 소실을 보였으며 이는 상치일<sup>6)</sup>, papaya 열매<sup>19)</sup>등과 유사하였다.

금속이온의 영향은 1mM의  $Cu^{++}$ 와 SDS에 대하여 24~50% 정도 저해를 받았으며 10 $\mu$ M에는  $\beta$ -gal I, II, 및 III 공히 완전하게 저해되었다. 이는 감<sup>2)</sup>과는 다소 차이가 있었으나, 당근<sup>18)</sup>, papaya 열매<sup>1)</sup> 등과는 유사하였다.

기질에 대한 특이성은 Michaelis-Menten 상수 (km)로 나타낸 값은  $\beta$ -gal I, II 및 III 각각 Pressy<sup>25)</sup>의 0.32mM, 0.77mM, 0.43mM과는 다소 차이가 있었으며 반응속도는 기질의 농도가  $6.0 \times 10^{-5}$ (M)까지 증가하였으나 그 이후는 완만하게 증가하였다.

## 적 요

성숙 중 토마토 과실의  $\beta$ -galactosidase의 활성 변화와 정제한 효소의 생화학적 특성을 조사하였다. 성숙단계에 따른 Toatl activity는 다소 증가하는 경향이였으며 DEAE-sephadex A-50 Coulmn chromatography 및 Sephadex G-100 Column chromatography를 통하여 정제한 결과  $\beta$ -galactosidase 3개의 isoenzyme ( $\beta$ -galactosidase I, II 및 III)을 가지고 있었다. 이들 각 isoenzyme의 성숙에 따른 활성변화를 조사한 결과 Mp에서는  $\beta$ -galactosidase I, II 및 III는 각각 69.8, 31.

8 및 170.8이였으나 RP에서는 48.7, 88.4 및 136.8을 각각 나타내어  $\beta$ -gal I 과 III은 다소 감소하였으나  $\beta$ -galactosidase II의 활성은 2.8배 증가하였다.

$\beta$ -galactosidase I, II 및 III의 최적 pH는 각각 3.9, 4.2 및 3.9였으며 최적 온도는 60°C 56°C 및 60°C였다. pH3.0~6.0에서 안정하였고 또한 3개의 isoenzyme은 55°C에서 5분간 열처리하였을 때 활성이 50% 소실되었다. 각 isoenzyme은  $Mg^{++}$ 에 의해 활성이 다소 증가되었으나  $Cu^{++}$ 와 SDS에 의해 활성이 30~40% 감소되었으며  $Hg^{++}$ 에 의해서는 완전히 저해되었다.  $\beta$ -gal I, II 및 III의 km치는 각각 0.36mM, 0.63mM 및 0.45mM이였으며 반응속도는 기질의 농도가  $6.0 \times 10^{-5}$ (M)까지 급격히 증가하였다.

## 인용문헌

1. Babbitt, J. K., M. J. Power and M. E. patterson. 1973. Effects of growth-regulatores on cellulase, polygalacturonase respiration, color, and texture of Ripening tomatoes. J. amer. SOC. Hort. Sci., 98; 77-81.
2. Bartley. 1974.  $\beta$ -galactosidase activity in ripening apples. phytochem., 13; 2107-2111.
3. Besford, R. T. and G. E. Hobson., 1972. Pectic enzymes associated with softening of tomato fruit. phytochem., 11; 2201-2205.
4. Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-Dye Binding. Ananytical Biochem., 72; 248-254.
5. Datko, A. H. and G. A. Maclachar. 1970. Patterns of development of glycosidase activities in the pea epicotyl. Can. J. Bot., 48; 1165-1169.
6. Gatt, H. and E. A. Baker. 1970. Purification and

- Separation of  $\alpha$ - and  $\beta$ -galactosidase from spinach leaves. *Biochem. Biophysiol. Act.*, 206 ; 125-135.
7. Hall, M. A., 1981. Cell wall structure in relation to texture In : p. w. Goodenough and R. K. Atkin(eds), *Quality in stored and processed vegetables and fruit*. Academic Press., New York., 53-64.
  8. Gross, K. C. and S. J. Wallner. 1979. Degradation of cell wall polysaccharide during Tomato fruit ripening. *plant physiol.*, 63 ; 117-120.
  9. Knee, M. 1973. Polysaccharide change in cell walls of ripening apples. *phytochem.*, 12 ; 1543-1549.
  10. Knee, M. 1975. Enzymic analysis of cell wall structure in apple fruit cortical tissue. *phytochem.*, 14 ; 2213-2222.
  11. Knee, M. 1978. Metabolism of polymethylgalacturonate in apple fruit cortical tissue during ripening. *phyto chem.*, 17 ; 1261-1264.
  12. Hobson, G. E. 1978. Cellulase activity during maturation and ripening of tomato fruit. *J. Food Sci.*, 33 ; 558-592.
  13. Hobson, G. E. 1981. Enzymes and texture changes during ripening. In ; Friend, J. and M. J. C. Rbodes(eds), *Recent advances in the biochemistry of fruit and vegetables*. Academic Press., London, 123-132.
  14. Huber, D. J. 1983. The role of cell wall hydrolases in fruit softening. *Hort. Reviews*, 5 ; 169-219.
  15. Hobson G. E. 1964. Polygalacturonase in normal and abnormal tomato fruit. *Biochem.*, 92 ; 324-334.
  16. Lamport, D. J. D. 1971. Cell Wall metabolism. *Ann. Rev. plant physio.*, 22 ; 235-270.
  17. Lackey, G. D., K. C. Gross and S. J. Wallner. 1980. Loss of Tomato cell wall Galactan may Involve reduced rate of synthesis. *plant physiol.*, 66 ; 532-533.
  18. Konno, H., Y. Yamasaki and K. katoh. 1986. Characteristics of  $\beta$ -galactosidase purified form cell suspension cultures of carrot. *physiol. plant*, 68 ; 46-52.
  19. Ohtani, K. and A. Misaki. 1983. Purification and characterization of  $\beta$ -galactosidase and  $\beta$ -D-mannosidase from papaya(*carica papaya*) seeds. *Agric. Biol. Chem.*, 47(1) ; 244-2451.
  20. 김승동, 강명수, 김광수. 1985. 고추의 성숙에 따른 세포벽 다당류의 변화와  $\beta$ -galactosidase Isoenzymes의 분리. *한국 영양식량학회지*. 14 (2) ; 157-163.
  21. Preston, R. D. 1979. Polysaccharide conformation and cell wall function. *Ann. Rev. plant physiol.*, 30 ; 5578.
  22. Piessey, R., D. M. Hinton and J. K. Avants. 1971. Development of polygalacturonase activity and solubilization of pectin in peaches during ripening. *J. Food. Sci.*, 36 ; 1070-1073.
  23. Pressey, R. and J. K. Avant. 1973. Two forms of PG in Tomatoes. *Biochemical cl Biophysica Acta*, 309 ; 303-309.
  24. pressey, R., Y. Fuchs and G. Zauberman. 1978. Cellulase activity and fruit softening in avocadc. *plant physiol.*, 61 ; 416-419.
  25. Pressey, R., 1983.  $\beta$ -galactosidases in ripening tomatoes. *plant physiol.*, 71 ; 132-135.
  26. Psmart, E. L. and D. M. pharr. 1980 characterization of  $\beta$ -galactosidase from cucumber leaves. *plant physiol.*, 66 ; 731-734.

27. Sato, T., S. Kusab, H. Nakagawa and N. Ogura. 1984. Cell-free synthesis of a putative precursor of polygalacturonase in tomato fruits. *plant physiol.*, 25 ; 1069-1071.
28. 신승렬. 1988. 감과실의 연화시 세포벽 구성성분, 효소활성, 단백질 및 조직변화에 관한 연구. 영남대학교 박사학위논문
29. Takenishi, S., J. Watanabe, T. Miwa and R. Kobayashi ; 1983. Purification and some properties of  $\beta$ -galactosidase from *penicillium multicolor*. *Agric. Biol. Chem.*, 47(11) ; 2553-2540.
30. Tucker, G. A. and D. Grierson. 1982. Synthesis of polygalacturonase during tomato fruit ripening. *planta*, 155 ; 64-67.
31. Wallner, S. J. and J. E. walker. 1975. Glycosidases in Cell wall-degrading Extracts of ripening tomato fruits. *plant physiol.*, 55 ; 94-98.
32. wallner and Bloom. 1977. Characteristics of tomato cell wall degradation in vitro. *plant physiol.*, 60 ; 207-210.
33. Yoshida, O., H. Nakagawa, N. Ogura and T. Sato, 1984. Effect of heat treatment on the development of polygalacturonase activity in tomato fruit during ripening. *plant & cell physiol.*, 25 (3) ; 505-509.