

감과실의 성숙과 추숙중의 Polygalacturonase활성 변화 및 특성

신승렬 · 김진구* · 김순동** · 김광수

영남대학교 식품영양학과, *상주농업전문대학 식품가공학과, **효성여자대학교 식품가공학과

Characteristics and Activity Changes of Polygalacturonase during Maturation and Postharvest of Persimmon Fruits

Seung-Ryeul Shin, Jin-Gu Kim*, Soon-Dong Kim** and Kwang-Soo Kim

Dept. of Food and Nutrition, Yeungnam University, Kyongsan, 713-749, Korea

*Dept. of Food Science and Technology, National Sangju Agriculture Junior College, Sangju, 742-170, Korea

**Dept. of Food Science and Technology, Hyosung Women's University, Kyongsan, 713-702, Korea

Abstract

Polygalacturonase activity was not detected at turning stage but were 55.01 and 206.70 units/100g -fr. wt. in mature and soft persimmon, respectively. Polygalacturonase have two isoenzymes and its molecular weight was estimated to be 55,000 daltons by the method of gel filtration. Vmax and Km of polygalacturonase I were 0.195 μ mole reducing-sugar/mL/30 min. and 3.50mg/mL, respectively. The optimum temperature and pH of the enzyme appeared to 40°C and 3.5, respectively. Polygalacturonase I had Vmax of 0.110mmole reducing-sugar/mL/30min. and Km value of 2.50mg/mL. The optimum temperature and pH of polygalacturonase II appear 40°C and 4.0, respectively. Polygalacturonase I was fairly stable at 60°C while polygalacturonase II appeared to be stable up to 40°C.

서 론

과실의 연화는 성숙과 저장중에 일어나는 생리화학적 변화로서 세포벽 분해효소에 의해 세포벽 다당류가 분해되어 세포벽의 변화를 초래함으로써 일어나며, 과실의 품질 변화와 부패, 변질을 유발하여 경제적 손실을 일으킨다¹⁾.

연화에 관련하는 효소는 polygalacturonase, glycosidase, cellulase, pectinmethylesterase 등이 있으며 이들 효소들은 성숙과 저장중에 활성이 증가한다^{1,2)}. 특히 polygalacturonase는 대부분의 과실에 존재하며 연화와 가장 밀접한 관계가 있으며²⁾, 성숙과 연화중에 활성이 증가하고²⁻⁴⁾ 세포벽 middle lamella를 구성하는 pectin질을 분

해하여 가용성 polyuronide로 유리시키고 동시에 pectin질의 side chain의 구성당인 galactose와 arabinose를 유리시킴으로써 연화를 촉진시킨다^{5,6)}. 이때 난용성 pectin질은 감소하고 가용성 pectin질은 증가한다^{7,8)}.

Pressey와 Tucker 등은 토마토의 성숙과 저장중에 polygalacturonase의 활성이 증가하는데 이는 선택적으로 isoenzyme의 활성이 증가하기 때문이라고 하였으며, Hoson⁹⁾과 Brady 등¹⁰⁾은 변이종 토마토인 rin과 Nr은 성숙과 저장중에 polygalacturonase의 활성이 나타나지 않고 연화현상도 거의 일어나지 않는다고 하였다. 또한 과실의 종류와 품종에 따라 polygalacturonase isoenzyme의 조성이 차이가 있으며, 즉 토마토^{11,12)},

배¹³⁾ 등에는 endo와 exo 형이 공존하지만 사과¹⁴⁾에는 exo형만이 존재한다. Pressey와 Avants^{15,16)}는 복숭아의 품종에 따라 polygalacturonase isoenzyme의 조성차이가 있으며 또한 연화현상도 차이가 있다고 하였다.

전보^{17,18)}에서 감과실의 성숙과 추숙중에 세포벽과 pectin의 함량이 감소하고 불용성 pectin이 감소하는 반면에 수용성 pectin이 증가하였으며, 또한 비섬유성 당인 galactose와 arabinose가 감소하였다. 이러한 현상은 polygalacturonase와 밀접한 관계가 있을 것으로 생각되어 성숙과 추숙중에 polygalacturonase의 활성변화와 생화학적 특성을 조사하였다.

재료 및 방법

재 료

본 실험에 사용한 감은 경남 창녕군에서 재배한 부유종 감시(*Diospyros kaki*, L.)로서 녹숙감(개화 105~110일, GP), 변색기의 감(개화 130~135일, TP), 완숙감(개화 155~160일, MP)과 완숙감을 25°C에서 30일간 연화시킨 연시(SP)를 실험재료로 사용하였다.

효소의 추출

효소추출은 Moshrefi와 Luh¹⁹⁾가 행한 방법에 따라 시료 200g에 증류수 400ml를 가하여 5분간 균질화하고 miracloth로 여과한 다음 색소가 없을 때까지 세척하고 잔사를 1M NaCl(pH 6.0)에 현탁시켜 3시간 추출하여 miracloth로 여과하였다. 여과액은 (NH₄)₂SO₄로 85% 포화, 염석하여 15,000g로 10분간 원심분리한 다음 침전물을 증류수 20ml에 용해하여 0.15N NaCl용액에서 48시간 투석하였으며, 다시 20,000g로 15분간 원심분리한 상정액을 조효소액으로 하였다. 모든 효소의 추출 조작은 4°C에서 행하였다.

효소의 활성측정

Polygalacturonase의 활성도 측정은 Gross²⁰⁾의 방법에 준하였다. 1% polygalacturonic acid용액 100 μ l 혼합액에 효소액 50 μ l를 가하여 30°C에서 30

분간 반응시킨 다음 100mM borate(pH 9.0) 1ml를 가하여 잘 혼합, 10분간 끓인 후 얼음물에서 냉각한 다음 276nm에서 흡광도를 측정하였다. Polygalacturonase의 활성도는 30°C에서 30분 동안에 1 μ mole의 환원당을 생산하는 효소량을 1unit로 하였다.

효소의 분리 및 정제

효소의 분리 및 정제를 위하여 0.15M NaCl을 함유한 10mM sodium acetate buffer(pH 4.6)로 평형시킨 sephacryl S-200 column(2.65 \times 65cm)에 조효소액 10ml를 주입하여 유속 0.25ml/min., 20분간격으로 분획하여 polygalacturonase와 β -galactosidase를 각각 분리하였으며, 분리된 각 효소액은 Diaflo PM-10 ultrafiltration membrane(MW cutoff; 10,000)을 부착한 amicon diaflo system을 사용하여 N₂ gas하에서 가압, 농축하였다. 농축한 각 효소액 10ml를 CM-cellulose column(2.0 \times 35cm)에 주입한 다음 0~1.0M NaCl linear gradient, 유속 0.25ml/min.로 하여 20분간 분획하였다. 정제된 효소액은 효소의 생화학적 특성을 조사하는데 사용하였다.

Gel여과에 의한 효소의 분자량측정

효소의 분자량은 Whitaker²¹⁾의 방법에 따라 sephacryl S-200 column(2.65 \times 65cm)을 10mM sodium acetate buffer로 평형시켜 void volume(V₀)을 구하고, column을 완전히 세척한 후 표준단백질을 column에 주입하여 각각의 elution volume(V_e)을 구한 다음 표준단백질의 분자량에 대한 V_e/V₀을 plot한 검량선에 의해서 각 효소의 분자량을 측정하였다. 이때 표준단백질은 cytochrome C(MW 12,400), carbonic anhydrase(MW 29,000), albumin(MW 66,000), phosphorylase b(MW 94,000), alcohol dehydrogenase(MW 150,000)와 β -amylase(MW 200,000)를 사용하였다.

효소의 생화학적 특성

Polygalacturonase isoenzyme은 기질 polygalacturonic acid 농도에 따른 활성의 변화를 각각 측정하여 Km값과 Vmax값을 구하였다. 온도에 대한

pH는 각 온도와 pH에서 효소의 활성을 측정하여 조사하였다. 온도에 대한 안정성은 효소를 여러 온도에서 10분간 열처리한 후 즉시 냉각시켜 잔존하는 효소의 활성을 측정하여 조사하였다. pH에 대한 안정성은 효소액을 4°C에서 pH 2~10 사이의 buffer로 투석한 후 pH 4.0에서 잔존하는 효소의 활성을 측정, 조사하였다. 효소활성에 미치는 금속이온, SDS, EDTA의 영향을 조사하기 위하여 최종농도가 효소반응액의 1mM이 되게 제조해서 각 금속이온과 EDTA, SDS에 대한 효소활성의 변화를 측정하였다.

단백질 정량

단백질 정량은 Lowry 등²²⁾의 방법에 따라 행하였다.

결과 및 고찰

Polygalacturonase 활성의 변화

과실의 연화현상은 세포벽 분해효소에 의해서 세포벽의 구성다당류가 가수분해됨으로써 일어나며^{1,2)}, polygalacturonase(E. C. 3.2.1.15)는 과실의 연화와 밀접한 관계가 있으며²⁾ 세포벽 middle lamella를 구성하는 pectin질을 분해하여 middle lamella가 용해됨으로써 연화된다^{2,7)}. 감의 성숙과 연화시 세포벽 분해효소인 polygalacturo-

nase의 활성 변화를 측정된 결과는 Table 1과 같다.

Polygalacturonase의 활성은 변색기까지는 나타나지 않았으며, 완숙감에서 55.01 unit/100g-fr. wt. 이었고, 연시에서는 206.70 unit/100g-fr. wt.로 완숙감에서 보다 월등히 높았다. 과실의 성숙중 polygalacturonase의 활성은 녹숙기에서는 나타나지 않고 과실이 익어감에 따라 활성이 증가하며^{2,4)}, 저장중에 polygalacturonase의 활성이 급격히 증가한다는 보고^{23,24)}가 있다. 과실이 성숙함에 따라 polygalacturonase의 활성증가는 세포벽의 분해와 동시에 glycoprotein 형태로 세포벽에 결합되어 있는 비활성형 polygalacturonase가 유리되어 활성형으로 전환되기 때문이며^{1,12)}, 특히 생성된 polygalacturonase로 유리되어 효소의 활성도 급증한다는 보고^{1,25)}가 있다. Buesche 등²⁶⁾은 과실이 성숙함에 따라 수용성 단백질의 함량이 증가하고 동시에 효소의 활성도 증가한다고 보고하였고, polygalacturonase의 활성이 증가하면 경도가 급격히 감소한다¹⁷⁾. 또 연화현상이 일어나지 않는 변이종인 rin과 mor종 토마토에는 polygalacturonase의 활성이 없다는 보고¹⁰⁾와 polygalacturonase가 존재하지 않으면 연화현상이 일어나지 않는다는 보고²⁷⁾가 있다.

Polygalacturonase의 분리와 정제

감의 연화와 관련이 깊은 효소인 polygalacturonase isoenzyme과 이들의 생화학적 특성을 조사하고자 이들 효소를 gel과 ion exchange column chromatography를 이용하여 분리 정제하였다.

본 연구에서 polygalacturonase의 분리, 정제는 연시에서 추출한 효소액을 사용하였으며, sephacryl S-200 column으로 분리한 결과, Fig. 1에서 보는 바와 같이 fraction No. 39~51에서 한개의 활성 peak가 확인되었다. 분획한 효소액을 모아서 diaflo PM-10 ultrafiltration membrane을 사용하여 amicon diaflo system으로 N2 gas하에서 가압, 농축한 다음 CM-cellulose column으로 분리한 결과는 Fig. 2과 같으며, fraction No. 25~31과 31~40에서 두개의 polygalacturonase의 활성 peak를 얻었다. 이 결과 감과실의 polygalacturonase의

Table 1. Changes in the activity of polygalacturonase extracted from persimmon fruits during ripening and softening (Unit/100g-fr. wt.)

	Stage ^{a)}			
	GP	TP	MP	SP
Polygalacturonase activity	nd	nd	55.01	206.70

^{a)}GP : mature green persimmon, TP : turning stage persimmon

MP : matured persimmon, SP : softened persimmon

nd : not detected.

One unit of activity is expressed as 1 μ mole of reducing sugar released/30min. at 30°C.

isozyme은 분자량은 같고 ion charge가 다른 두개의 isozyme이 존재하는 것을 확인하였다.

Pressey와 Avants^{11, 13}), Brady 등¹⁰)은 토마토와

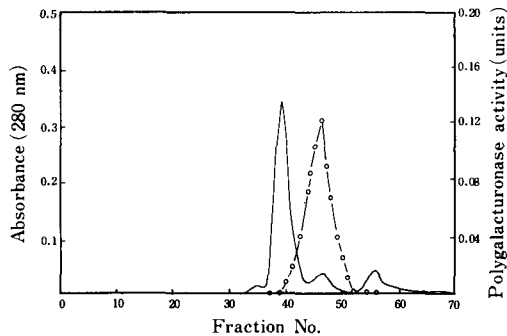


Fig. 1. Elution profile of polygalacturonase extracted from soft persimmon fruits on Sephacryl S-200 column.

Column size : 2.65×65cm, Flow rate : 0.25ml/min., Absorbance at 280nm : —, Polygalacturonase activity ○—○.

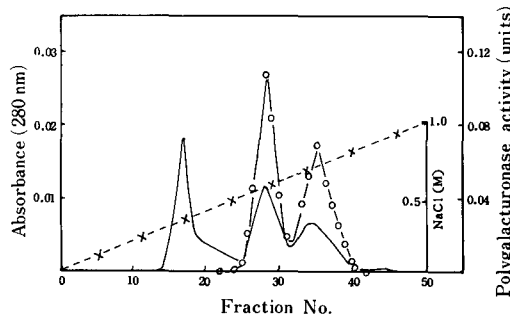


Fig. 2. Elution profile of polygalacturonase fraction from Sephacryl S-200 on CM-cellulose column.

Column size : 2.0×35cm, Flow rate : 0.25ml/min., Absorbance at 280nm : —, Buffer gradient : ×---×, Polygalacturonase activity ○—○.

배의 polygalacturonase는 두개의 isozyme으로 존재한다고 하였으며, Tucker 등⁴)은 토마토에 두개의 polygalacturonase isozyme이 존재하며, 성숙초기에는 분자량이 큰 polygalacturonase I이 우세하나, 후반에는 분자량이 작은 polygalacturonase II가 우세하며 이것이 과실의 연화를 주도한다고 보고하였다. Pressey와 Avants¹⁶)는 복숭아의 polygalacturonase isozyme은 품종에 따라 수와 분자량이 다양하다고 하였다.

조효소액으로부터 sephacryl S-200과 CM-cellulose column으로 polygalacturonase를 정제한 결과는 Table 2와 같다. 조효소액에 (NH₄)₂SO₄를 처리하였을 때 효소액은 약 1.06배가 정제되었고 sephacryl S-200 column으로 gel 여과한 결과 비활성도가 48.75 unit/mg-protein이었으며, 정제율과 회수율은 각각 8.96배, 66.80%이었다. CM-cellulose column으로 정제한 polygalacturonase I과 II의 비활성도는 각각 71.10과 69.00unit/mg-protein이었으며, 이때 정제율과 회수율은 polygalacturonase I은 각각 13.07배, 33.50%이었고, polygalacturonase II는 각각 12.68배, 19.20%이었다.

Gel여과에 의한 효소의 분자량측정

Polygalacturonase isozyme의 분자량을 측정하기 위하여 표준단백질과 효소를 sephacryl S-200 column에 주입하여 분획한 결과는 Fig. 3과 같다. Polygalacturonase I과 II의 분자량은 다같이 약 55,000 dalton이었다. Pressey와 Avants¹¹)은 토마토에서 분자량이 각각 84,000과 44,000 dalton인 두종의 polygalacturonase isozyme을 분리하였고, 이들 isozyme의 생화학적 특성은 유사하

Table 2. Summary of the purification of polygalacturonase extracted from soft persimmon fruits

Purification step	Total activity (units)	Protein content (mg)	Specific activity (units/mg)	Recovery (%)	Purification (fold)
Crude extract	23.34	4.29	5.44	100.00	1.00
(NH ₄) ₂ SO ₄ treatment	19.84	3.46	5.74	85.00	1.06
Sephacryl S-200	15.60	0.32	48.75	66.80	8.96
CM-cellulose PG I	7.82	0.11	71.10	33.50	13.07
PG II	4.60	0.07	69.00	19.20	12.68

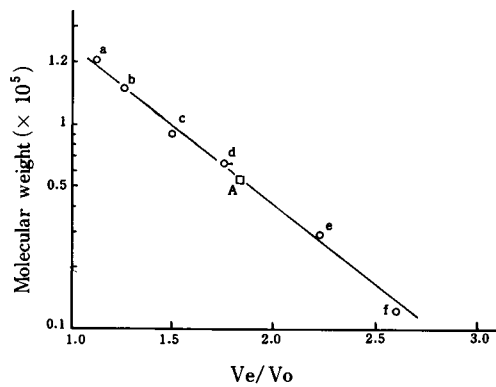


Fig. 3. Determination of molecular weight of polygalacturonase extracted from soft persimmon fruits by Sephacryl S-200 gel filtration.

Vo : void volume, Ve : elution volume of each protein.
 a : β -amylase(200,000), b : alcohol dehydrogenase(160,000)
 c : phosphorylase b(94,000), d : albumin(66,000), e : carbonic anhydrase(29,000), f : cytochrome c(12,400).
 A : Polygalacturonase

다고 하였다. 또 Pressey와 Avants¹⁶⁾는 복숭아에서 분자량이 68,000과 41,000 dalton인 2종의 polygalacturonase isoenzyme을 분리하였고, 또한 Bartley¹⁴⁾는 사과의 polygalacturonase는 59,000이라고 보고하였다. 따라서 과실의 polygalacturonase의 분자량은 40,000~80,000정도이다.

생화학적 특성

분리, 정제한 polygalacturonase isoenzyme의 생화학적 특성을 조사하기 위하여 기질의 농도, pH, 온도, 반응시간 등에 따른 활성의 변화와, 열과 pH에 대한 안정성을 조사하였다.

Polygalacturonase isoenzyme의 기질에 대한 특성을 조사한 결과는 Fig. 4와 같다. 즉 1% polygalacturonic acid를 기질로 하였을 때 polygalacturonase I의 Km값은 3.5mg/ml, Vmax는 0.195 μ mole reducing-sugar/ml/30min.이었고, polygalacturonase II의 Km값과 Vmax는 각각 2.5mg/ml, 0.110 μ mole reducing-sugar/ml/30min.이었다.

Polygalacturonase isoenzyme의 반응시간에 따

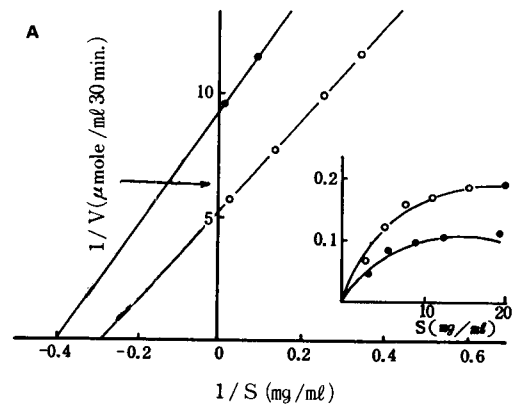


Fig. 4. Lineweaver-Burk plots of polygalacturonase isoenzymes extracted from soft persimmon frutis.

A) Polygalacturonase I : ○—○
 Polygalacturonase II : ●—●

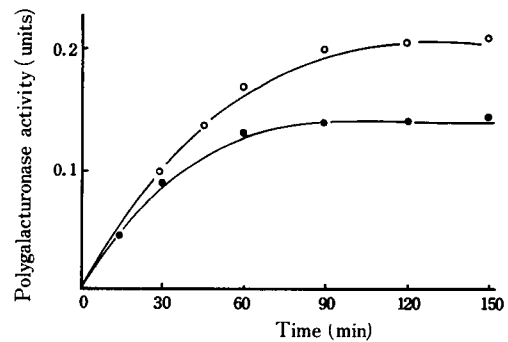


Fig. 5. Time course on the activities of polygalacturonase isoenzymes extracted from soft persimmon frutis.

A) Polygalacturonase I : ○—○
 Polygalacturonase II : ●—●

른 활성변화를 측정 한 결과는 Fig. 5와 같다. Polygalacturonase I은 80분까지 반응속도가 증가하다가 이후 완만하게 증가하여 120분 최대속도에 도달하였고, polygalacturonase II는 45분까지 증가하다가 70분에 최대속도에 도달하였다.

Fig. 6은 polygalacturonase isoenzyme의 pH에 따른 활성변화를 나타낸 것이며, polygalacturonase I과 II의 최적 pH는 3.5~4.0, 4.0~4.5이었다. Reymond와 Pharr²⁸⁾는 avocado의 polygalacturonase의 최적 pH가 5.5, Pressey와 Avants¹⁶⁾는 복숭아의 polygalacturonase I과 II는 각각 5.5,

4.0, 배의 polygalacturonase는 4.5라고 보고하였고, Ali와 Brady²⁹⁾는 토마토의 polygalacturonase의 최적 pH는 4.0~5.0이라 하였다. 이상의 연구보고를 종합하면 감의 polygalacturonase의 최적 pH는 타과실과 유사하고, 일반적으로 과실의 polygalacturonase의 최적 pH는 pH 4~5임을 알 수 있다.

Polygalacturonase isoenzyme의 활성에 미치는 농도의 영향은 Fig. 7과 같다. Polygalacturonase I 과 II의 최적온도는 각각 40°C와 35°C이었다.

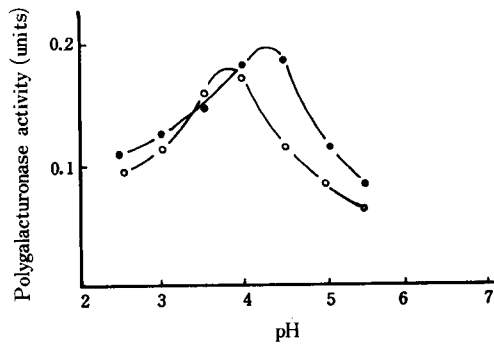


Fig. 6. Effects of pH on the activities of polygalacturonase isoenzymes extracted from soft persimmon frutis.
A) Polygalacturonase I ; ○—○
Polygalacturonase II ; ●—●

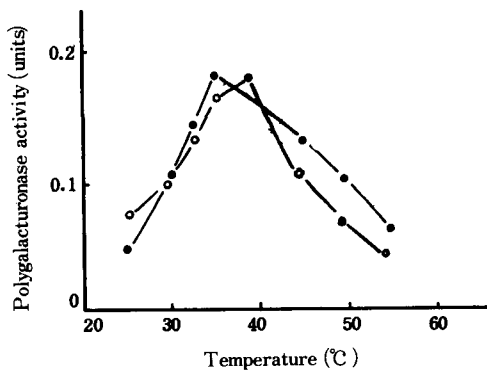


Fig. 7. Effects of temperature on the activities of polygalacturonase isoenzymes extracted from soft persimmon frutis.
A) Polygalacturonase I ; ○—○
Polygalacturonase II ; ●—●

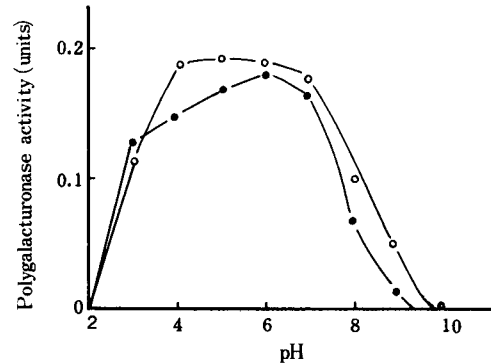


Fig. 8. Effect of pH on the stability of polygalacturonase isoenzymes extracted from soft persimmon frutis.
A) Polygalacturonase I ; ○—○
Polygalacturonase II ; ●—●

Polygalacturonase isoenzyme의 pH에 대한 안정성을 조사한 결과는 Fig. 8과 같다. Polygalacturonase I 과 II는 다같이 pH 4.0~7.0에서 안정하였고, 각각 pH 7.5와 8.0에서 약 50%정도 활성이 소실되었으며 pH 2에서는 활성이 나타나지 않았다. Moshrefi와 Luh¹⁹⁾는 토마토의 polygalacturonase는 pH 3.5~8.5에서 비교적 안정하다고 보고하였고, Pressey와 Avants¹¹⁾의 보고에 따르면 토마토의 polygalacturonase I 과 II는 pH 4.3~5.6에서 안정하다. 그리고 오이의 polygalacturonase는 pH 3.0~8.0³⁰⁾, 복숭아의 polygalacturonase는 pH 3.5~7.0에서 안정하다는 보고¹⁶⁾가 있다. 이상의 보고들은 본 연구의 결과와 유사한 경향이었으나 *Candida macedonensis*와 *Kluyveromyces marxinus*의 polygalacturonase가 pH 3.0~5.0에서 안정하다는 보고^{31,32)}와는 미생물과는 다소 차이가 있었다.

Polygalacturonase isoenzyme의 열처리에 따른 안정성은 Fig. 9과 같다. Polygalacturonase I은 40°C까지 안정하였으나 이후 완만히 안정성이 감소되어 70°C에서 완전히 실활되었고, polygalacturonase II는 60°C까지 안정하였지만 이후 급격히 실활되며 80°C에서 완전히 불활성화되어 polygalacturonase isoenzyme간의 열에 대한 안정성에 차이가 있었다. Pressey와 Avants¹¹⁾, Ali와 Brady

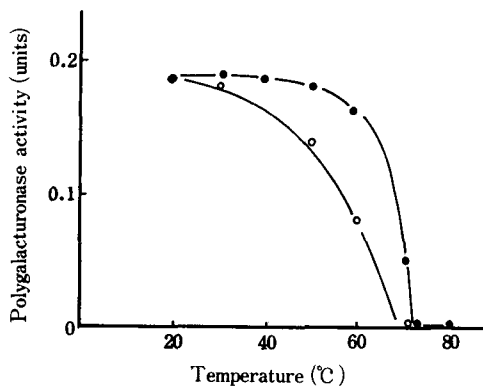


Fig. 9. Effects of heat treatment on the stability of polygalacturonase isoenzymes extracted from soft persimmon frutis.

A) Polygalacturonase I : ○
 Polygalacturonase II : ●

29)는 토마토의 polygalacturonase I 과 II는 50°C 이하에서는 안정하나 60°C에서 완전히 소실되었다고 보고하였으며, 또한 Tucker 등4)은 토마토의 polygalacturonase I 은 70°C까지 안정하였으나 이후 활성이 서서히 감소하는 반면 polygalacturonase II는 50°C까지 안정하나 65°C에서 완전히 소실되었다고 보고하였다.

Table 3은 금속이온과 EDTA, SDS가 polygalacturonase isoenzyme의 활성에 미치는 영향을 조

Table 3. Effects of various additives on the activities of polygalacturonase isoenzymes extracted from soft persimmon fruits

Additives	Final concentration (mM)	Relative activity(%)	
		Polygalacturonase	
		I	II
None	—	100.0	100.0
K ⁺	1	46.7	38.5
Cu ⁺⁺	1	60.0	69.2
Ca ⁺⁺	1	110.0	103.4
Zn ⁺⁺	1	66.7	69.2
Mg ⁺⁺	1	96.0	95.4
SDS	1	40.0	38.5
EDTA	1	40.0	53.8

*K⁺ ; K₂SO₄, Cu⁺⁺ ; CuSO₄, Ca ; CaCl₂, Zn⁺⁺ ; ZnCl₂, Mg⁺⁺ ; MgCl₂

사한 결과이다. Polygalacturonase I 과 II는 K⁺, Cu⁺⁺, Zn⁺⁺, SDS EDTA에 대해서 30~60% 정도 저해받았으나 Ca⁺⁺은 약간 촉진하였고 Mg⁺⁺은 뚜렷한 영향을 주지 않았다. 일반적으로 염화금속이온들은 polygalacturonase의 활성에 영향을 주지 않거나 촉진하는 것으로 보고13,15)되고 있다. 특히 NaCl은 polygalacturonase의 활성을 촉진한다는 보고15)가 있다. Ali와 Brady29)는 EDTA와 SDS가 polygalacturonase의 활성을 강력히 저해한다고 보고하였다.

요 약

Polygalacturonase의 활성은 미숙감과실에서 나타나지 않았으나 완숙감과 연시에서 각각 55.01, 206.70unit/100g-fr. wt.로 연시에서 급격히 증가하였다. 연시에서 추출한 polygalacturonase의 isoenzyme은 2종이었고, 분자량은 다같이 55,000 dalton이었다. Polygalacturonase isoenzyme의 특성을 조사한 결과, polygalacturonase I의 Vmax는 0.195μmole reducing-sugar/ml/30min., Km값은 3.50mg/ml이었고, 최적온도 40°C, 최적 pH 3.5이었으며, 열처리시 60°C까지 안정하였다. Polygalacturonase II의 Vmax는 0.11μmole reducing-sugar/ml/30min., Km값은 2.50mg/ml이었고, 최적온도와 pH는 35°C와 4.0이었으며, 40°C까지 안정하였다. Polygalacturonase I 과 II는 K⁺, Cu⁺⁺, Zn⁺⁺, SDS, EDTA에 의해서 활성이 저해되었고 Ca⁺⁺에 의해 다소 촉진되었다.

사 사

본 연구는 한국과학재단 1988년도 학술연구조성비지원(891-1508-062-2)에 의하여 수행된 연구결과의 일부이며, 연구비를 지원하여 준 한국과학재단에 깊은 사의를 표하는 바이다.

문 헌

1. Hobson, G. E. : Enzymes and texture changes during ripening. In : Friend, J. and M. J. C.

- Rhodes(eds), Recent advances in the biochemistry of fruit and vegetables. Academic Press, London, p. 123(1981)
2. Hubr, D. J. : The role of cell wall hydrolases in fruit softening. Horticultural Reviews .5, 169(1983)
 3. Pressey, R. : Purification and characterization of tomato polygalacturonase converter. Eur. J. Biochem., 144, 217(1984)
 4. 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(1980)
 5. Aspinall, G. O. : Chemistry of cell wall polygalacturonases. In : J. Preiss(ed), The biochemistry of plants, Vol. 3. Carbohydrates : Structure and function. Academic Press, New York, p. 473(1980)
 6. Lamport, D. T. D. : Cell wall metabolism. Ann. Rev. Plant Physiol., 22, 235(1971)
 7. Knee, M. and I. M. Bartley : Composition and metabolism of cell wall polysaccharides in ripening fruits. In : Friend, J. and Rhodes, M. J. C.(eds), Recent advances in the biochemistry of fruit and vegetable. Academic Press, London, p. 133(1980)
 8. Bartley, I. M. and Knee, M. : The chemistry of textural changes in fruit during storage. Food Chem., 9, 47(1982)
 9. Hobson, G. A. : Polygalacturonase in normal and abnormal tomato fruit. Bioch. J., 92, 324(1964)
 10. Brady, C. J., Meldrum, S. K. and McGlsson, W. b. : Differential accumulation of the molecular forms of Polygalacturonase in tomato mutants. J. Food Biochem., 7, 7(1983)
 11. Pressey, R. and Avants, J. K. : Two forms of polygalacturonase in tomatoes. Biochemica. et Biophysica Act, 309, 363(1973)
 12. Tucker, G. A. and Grierson, D. : Synthesis of polygalacturonase during tomato fruit ripening. Planta, 155, 64(1982)
 13. Pressey, R. and Avants, J. K. : Pear polygalacturonase. Phytochemistry, 15, 1349-1351(1976)
 14. Bartley, I. M : Exo-polygalacturonase of apple. Phytochemistry, 17, 213-216(1978)
 15. Nakagawa, H. Sekiguchi, K., Ogura, N. and Takehana, H. : Agric. Bio. Chem., 35, 301(1971)[Recent advances in the biochemistry of fruit and vegetables. Academic Press, London, p. 123(1981)]
 16. Pressey, R. and Avants, J. K. : Difference in polygalacturonase composition of clingstone and freestone peaches. J. Food Sci., 43, 1415(1978)
 17. 신승렬, 김주남, 김순동, 김광수 : 감과실의 성숙과 추숙중의 세포벽 구성성분의 변화. 한국식품과학회지, 22(6)(1990)
 18. 신승렬, 송준희, 김순동, 김광수 : 감과실의 성숙과 추숙중의 세포벽 다당류의 비섬유성 단당류의 변화 한국식품과학회지, 22(6)(1990)
 19. Moshrefl, M. and Luh, B. S. : Purification and characterization of two tomato polygalacturonase isoenzymes. J. Food Biochem., 8, 39(1984)
 20. Gross, K. C. : A rapid and sensitive spectrophotometric method for assaying polygalacturonase using 2-cyanoacetamide. Hortscience, 10(6), 624(1975)
 21. Whitaker, J. R. : Determination of molecular weights of proteins by gel filtration on Sephadex. Anal. Chem., 35, 1950(1963)
 22. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall : Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193, 265(1951)
 23. Grierson, D., Tucker, A. and N. G. Robertson : The molecular biology of ripening. In : J. Friend and Rhodes, M. J. C.(eds), Recent advances in the biochemistry of fruit and vegetable. Academic Press, London, p. 149(1983)
 24. Pressey, R. : Enzymes involved in fruit softening. In : R. L. Ory and Angelo, A. St.(eds), Enzymes in food and beverage processing. ACS Symposium Series 47, p. 172(1977)
 25. Strand, L. ., Rechtoris, C. and Mussell, H. : Polygalacturonase release cell wall-bound proteins. Plant Physiol., 58, 722(1976)
 26. Suescher, R. W., W. A. Sistrunk, W. A., Tigchelaar, E. C. and Ng, T. J. : Softening, pectolytic activity and storage-life of rin and nor tomato hybrids. Hortscience, 11, 603(1976)
 27. Ng, T. J. and Tigchelaar, E. C. : Actionof the non-ripening(nor) mutant on fruit ripening of tomato. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 102(4), 504(1977)
 28. Reymond, D. and Phaff, H. J. : Purification and certain properties of avocado polygalacturonase. J. Food Sci., 30, 266(1965)
 29. Ali, Z. M. and Brady, C. J. : Purification and

- characterization of the polygalacturonase of tomato fruits. *Aust. J. Plant Physiol.*, **9**, 155 (1982)
30. Pressey, R. and Avants, J. K. : Cucumber polygalacturonase *J. Food Sci.* **40**, 937(1975)
31. Call, H. P., Walter, J. and Emeis, C. C. : Maceration activity of an endo-polygalacturonase from *Candida maceloniensis*. *J. Food Biochem.*, **9**, 326(1985)
32. Call, H. P. and Emeis, C. C. : Characterization of an endopolygalacturonase of the yeast *Kluyveromyces marxianus*. *J. Food Biochem.*, **7**, 59(1983)

(1990년 9월 2일 접수)