

## 김치재료의 펙틴 가수분해 효소활성

김현정 · 이정진 · 정건섭\* · 최신양  
한국식품개발연구원, \*연세대학교 생물자원공학과

### Pectin-degrading Enzymes of *Kimchi* Ingredients

Hyun-Jung Kim, Jung-Jin Lee, Kun-Sub Chung\* and Shin-Yang Choi

Korea Food Research Institute

\*Department of Biological Resources and Technology, Yonsei University

#### Abstract

Pectic substances are important to sustain the textural properties of *kimchi* during fermentation and distribution. Therefore proper control of pectin degrading enzyme activity is critical on quality control in *kimchi* industry. Pectin degrading enzymes of *kimchi* ingredients were assayed to improve the product quality. Among pectin degrading enzymes, polygalacturonase and pectinesterase were selected. The specific activity of polygalacturonase was the highest in salted and fermented anchovy, followed by chinese radish. Considering the amount of protein contents, salted and fermented anchovy and dried red pepper showed higher polygalacturonase activity than other ingredients. In terms of specific activity, chinese radish showed the highest pectinesterase activity, followed by salted and fermented anchovy. However, the total activity of salted and fermented anchovy was the highest. Chinese radish showed higher pectinesterase activity than any other ingredients.

Key words: polygalacturonase, pectinesterase, *kimchi*

#### 서 론

구조적으로 복합다당류의 일종으로 분류되는 펙틴은 주로 과채류의 중엽(middle lamella)과 1차 세포벽(primary cell wall)에서 발견된다<sup>(1)</sup>. 펙틴은 과채류와 그 가공제품의 조직감 및 레올로지 특성에 많은 영향을 미치며, 결과적으로 최종 소비단계에서의 관능 특성에도 중요한 역할을 한다<sup>(2)</sup>. 이는 김치의 경우에도 적용되는 것으로 과숙된 김치의 연화현상은 식물조직 내에 존재하는 펙틴의 분해가 가장 큰 원인으로 밝혀져 있다<sup>(3)</sup>. 펙틴의 분해는 식물체에 천연적으로 존재하는 depolymerase 및 esterase에 의해 진행되며<sup>(4)</sup>, 이 때 관여하는 depolymerase는 보통 펙틴이나 펙틴산의 glycoside 결합을 가수분해하는 endo-와 exo-형의 polygalacturonase (EC 3.2.1.15)이고 esterase는 펙틴분자의 methyl ester group에 작용하여 펙틴산과 메탄올을 생성하는 pectinesterase (pectin pectyl hydrolase, EC 3.1.1.11)이다<sup>(5)</sup>.

Pectinesterase의 가수분해산물인 펙틴산은 칼슘이온과 쉽게 결합하여 가교를 형성함으로써 결과적으로 식물세포막을 견고하게 하는 작용을 하고<sup>(6)</sup> 김치의 숙성중 pectinesterase의 활성이 유지 또는 증가되는 경우 김치의 연화현상이 억제되는 것으로 보고되고 있다. 김치의 연화현상과 관련하여 polygalacturonase와 pectinesterase의 열처리에 의한 선택적 불활성화<sup>(6,7)</sup>, 염 및 각종 첨가물에 의한 영향<sup>(8,9)</sup> 등 다양하게 연구되어 왔으나 가장 근간이 되는 김치 재료들의 펙틴분해효소 활성에 대해서는 연구되지 않고 있다. 따라서 본 연구에서는 대표적인 김치재료의 polygalacturonase와 pectinesterase 활성을 조사하고 양적 분포를 비교하여 김치 연화관련 효소에 대한 기초자료를 제공하고자 한다.

#### 재료 및 방법

##### 실험 재료

본 실험에 사용된 김치재료는 배추, 무, 오이, 파, 마늘, 고춧가루, 굴, 새우젓, 멸치젓 등 9종으로 시판품을 구입하여 사용하였다. 효소의 역가를 측정하기 위한 시약은 특급시약을 사용하였다.

Corresponding author: Shin-Yang Choi, Korea Food Research Institute, San 46-1, Baekhyun-dong, Bundang-gu, Songnam-si, Kyonggi-do 463-420, Korea

### 조효소액의 조제

김치 재료의 조효소액 조제방법은 다음과 같다. 재료를 세절한 후 3배의 phosphate buffer (10 mM, pH 7.4)를 가하여 균질화하여 4°C에서 12시간 동안 추출하였다. 이 때 고춧가루는 10배의 phosphate buffer를 이용하여 추출하였다. 추출된 조효소액을 10,000×g에서 20분간 원심분리하여 상등액을 분리하였다. 상등액을 대상으로 80% 유안침전시킨 후 12,000×g에서 20분간 원심분리하여 얻은 침전물을 같은 buffer에 대하여 투석한 것을 조효소액으로 하였다. 제조된 조효소액은 동결건조한 후 -70°C에서 보관하면서 효소의 역가를 측정하였다.

### 단백질농도

단백질 농도는 Lowry법을 이용하여 측정하였으며 표준 단백질로는 bovine serum albumin을 사용하여 정량하였다<sup>(11)</sup>.

### Polygalacturonase 활성

0.45% polygalacturonic acid 용액(0.1 M acetic acid buffer)과 효소액을 부피비로 24:1로 혼합한 후 30°C에서 교반하면서 2시간 동안 반응시킨 후 100°C에서 3분간 가열하여 반응을 종로시켰다. 동량의 0.1 N NaOH를 가하고 이 때 생성된 당을 DNS법으로 측정하여 α-D-galacturonic acid를 기준으로 정량하였다. Polygalacturonase의 효소활성단위는 2시간 동안 1 mg의 환원당을 생성할 때를 1단위로 하였다<sup>(6)</sup>.

### Pectinesterase 활성

감귤류 펙틴(Sigma)을 40°C로 가온한 0.2 M NaCl 용액에 서서히 가하고 교반하면서 0.45% 용액을 조제

하여 기질로 사용하였다. 효소활성을 측정하기 위하여 미리 pH 7.0으로 조정한 기질 30 mL와 효소액 1 mL을 30°C에서 5분간 반응시키고 0.01 N NaOH를 사용하여 pH 7.0으로 중화적정하여 소모된 NaOH용액으로부터 효소활성을 계산하였다. 효소활성단위는 측정조건에서 매 분당 1 mole의 카복실 그룹을 유리하는 효소양으로 하였으며 pectinesterase unit (PEU)는 다음과 같다<sup>(12)</sup>.

$$\text{PEU/mL} = \frac{\text{mL NaOH} \times \text{Normality of NaOH} \times 1,000}{\text{mL sample} \times \text{minutes}}$$

## 결과 및 고찰

### 단백질 함량

다양한 김치재료중 보편적으로 사용되고 있는 9종의 김치재료의 시료 100 g당 단백질 함량은 김 등<sup>(10)</sup>의 결과와 같으며 Table 1에 나타내었다. 시험한 시료중 유일하게 건조형태로 사용되고 있는 고춧가루와 동물성 재료인 굴, 새우젓, 멸치젓의 단백질함량이 다른 시료에 비하여 높았다.

### Polygalacturonase 활성

시험한 여러 가지 김치재료중 멸치젓의 polygalacturonase 활성이 비활성과 시료 1 g당 활성에서 각각 7.625 units/mg protein과 150.443 units/g sample로 높게 나타났다(Table 1, Fig. 1. A). 비활성은 무의 경우가 2.593 units/mg protein으로 높았으나 단백질 함량을 고려한 경우 고춧가루의 시료 1 g당 활성이 높게 나타났다. Polygalacturonase는 식물체 이외에도 *Aspergillus niger*, *Aspergillus japonicus* 및 *Rhizopus arrhizus* 등의

**Table 1. Protein contents and specific activity of polygalacturonase and pectinesterase in various kimchi ingredients**

Kimchi ingredients	protein concentration <sup>2)</sup>	specific activity <sup>3)</sup>	
		polygalacturonase	pectinesterase
chinese cabbage	2.24±0.11 <sup>1)</sup>	0.250±0.051	0.025±0.001
chinese radish	1.99±0.03	2.593±0.365	0.453±0.025
dried red pepper	59.52±0.71	0.269±0.014	0.009±0.000
green onion	4.43±0.12	0.130±0.021	0.024±0.002
garlic	11.55±0.27	0.114±0.009	0.053±0.003
cucumber	2.10±0.06	0.345±0.105	0.044±0.002
salted and fermented anchovy	19.73±0.19	7.625±0.627	0.168±0.015
salted and fermented shrimp	21.50±0.36	0.125±0.035	0.007±0.001
oyster	26.76±0.30	0.197±0.011	0.004±0.001

<sup>1)</sup> Mean ± SD (n=3).

<sup>2)</sup> mg protein/g sample.

<sup>3)</sup> unit/mg protein.

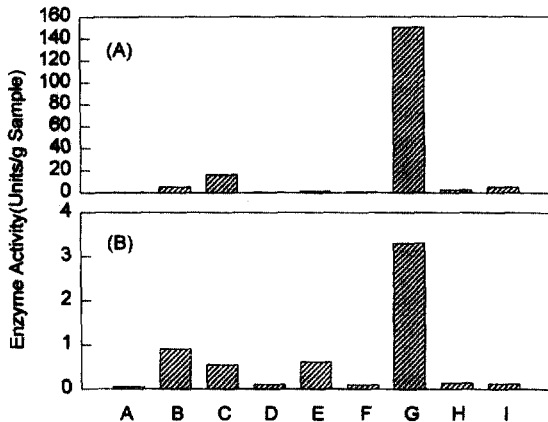


Fig. 1. Pectin degrading enzyme activity in unit amounts of various kimchi ingredients. (A) polygalacturonase; (B) pectinesterase. A, Chinese cabbage; B, Chinese radish; C, Red pepper powder; D, Green onion; E, Garlic; F, Cucumber; G, Salted and fermented anchovy; H, Salted and fermented shrimp; I, Oyster.

fungi와 *Erwinia carotovora* 및 *Pseudomonas cepacia* 등의 bacteria도 생성하는 것으로 보고되고 있기 때문에<sup>6)</sup> 멸치젓의 polygalacturonase활성은 발효과정에 관여하는 여러 미생물에 기인한 것으로 판단된다. 그러나 같은 발효식품인 새우젓의 비활성이 배추 또는 오이보다 낮게 나타났으며 발효식품중의 미생물상에 따라 효소활성이 다를 것으로 사료된다. 본 실험 결과 멸치젓의 polygalacturonase 활성은 다른 시료에 비하여 월등히 높게 나타났으므로 멸치젓을 첨가한 김치의 경우 대조군과 비교할 때 발효중 효소활성 및 조직감의 차이가 있을 것으로 예상된다. 류 등<sup>9)</sup>은 polygalacturonase 활성이 멸치가루와 생멸치를 첨가한 경우 대조군보다 발효기간이 증가함에 따라 낮았으며 멸치가루와 생멸치 속의 칼슘이 pectic acid와 복합체를 형성하여 polygalacturonase활성을 저하시키는 것으로 고찰하고 있다. 류 등<sup>9)</sup>의 결과는 본 연구결과로부터 추론되는 결과와는 상이한 것으로 이는 멸치젓의 발효과정중 polygalacturonase 활성이 생성되었을 가능성을 뒷받침하는 것으로 생각된다.

#### Pectinesterase 활성

펙틴의 메틸기를 떼어내고 유리 카르복실기를 만들어 펙틴물질들 사이에 Ca<sup>2+</sup>를 통한 가교를 형성함으로써 김치의 연화현상을 억제하는 것으로 알려져 있는 pectinesterase<sup>10)</sup>의 비활성은 Table 1에 나타낸 바와 같다. 무의 비활성은 0.453 units/mg protein으로 가장 높게 나타났으며 멸치젓, 마늘, 오이의 순으로 비활성이

높았다. 한편 시료 1 g당 활성은 Fig. 1. B에 나타낸 바와 같이 멸치젓, 무, 마늘의 활성이 각각 3.310, 0.901, 0.613 units/g sample로 다른 시료에 비해 높게 나타났다. 유 등<sup>13)</sup>은 마늘첨가량이 높은 김치는 숙성에 따른 protopectin의 감소가 적었으며, 수용성 펙틴의 증가도 적은 것으로 보고하고 있으며 이는 마늘의 미생물 생장억제 효과 및 나아가 미생물이 생성하는 효소의 생성억제에 기인하는 것으로 고찰하고 있다. 마늘은 항미생물활성이 있는 것으로 보고되고 있으므로<sup>14,15)</sup> 김치의 발효중 polygalacturonase생성 미생물의 생육을 억제함으로써 결과적으로 김치의 연화현상을 억제하는 것으로 생각되나 본 연구결과로부터 김치연화현상에 대한 마늘의 억제작용은 부분적으로는 마늘 자체에 존재하는 pectinesterase에 기인할 것으로 사료된다.

#### 요 약

본 연구에서는 김치의 대표적인 품질저하현상인 조직감 연화와 관련된 효소의 활성을 조사하여 이를 기초로 향후 김치생산시 기초자료로 사용하고자 몇가지 김치 재료중 존재하는 펙틴가수분해효소활성을 측정하였다. 펙틴가수분해효소중 polygalacturonase의 비활성은 멸치젓, 무의 경우가 높았고, 시료 1 g당 효소활성은 150.443 units/g sample인 멸치젓이 가장 높게 나타났으며 고춧가루의 활성도 높게 나타났다. 조직감의 유지에 관여하는 것으로 알려져 있는 pectinesterase의 비활성은 무가 가장 높았으며 멸치젓에서도 높게 나타났다. 시료 1 g당 효소활성은 멸치젓이 3.310 units/g sample로 가장 높았으며 무, 마늘의 활성이 각각 0.901, 0.613 units/g sample로 높게 나타났다. 김치 원료의 배합비를 고려할 때<sup>16)</sup> 주원료인 무, 배추뿐만 아니라 부원료로 첨가되는 멸치젓 자체에 존재하는 펙틴분해효소가 김치의 숙성 및 유통중 품질변화에 많은 영향을 줄 것으로 예상된다.

#### 감사의 글

본 연구는 농림부의 '97년도 농림수산물개발사업 기획연구과제 사업비의 지원으로 수행된 연구결과의 일부로서 이에 감사드립니다.

#### 문 헌

1. Brinson, K. and Dey, P.M.: Polysaccharides containing

- xylose, arabinose and galactose in higher plants. In *Biochemistry of storage carbohydrates in green plants*. 349-371, Dey, P.M. and Dixon, R.A. (ed.) Academic Press, London, UK (1985)
2. John, M.A. and Dey, D.M.: Postharvest changes in fruit cell wall. *Adv. Food Res.*, **30**, 139-193 (1986)
  3. Yook, C., Chang, K., Park, K.H. and Ahn, S.Y.: Pre-heating treatment for prevention of tissue softening of radish root kimchi (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **17**(6), 447-453 (1985)
  4. Versteeg, C., Rombouts, F.M., Spaansen, C.H. and Pilnik, W.: Thermostability and orange juice cloud destabilizing properties of multiple pectinesterases from orange. *J. Food Sci.*, **45**, 969-971 (1980)
  5. Collmer, A., Ried, J.L. and Mount, M.S.: Assay methods for pectic enzymes. In *Methods in Enzymology*. Vol. 161, Part B, Wood, W.A. and Kellogg, S.T. (ed.) Academic Press, London, UK (1988)
  6. Koh, Y.H. and Park, K.H.: Purification and characterization of chinese cabbage pectinesterase (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **16**(2), 235-241 (1984)
  7. Baek, H.H., Lee, C.H., Woo, D.H., Park, K.H., Pek, U. H., Lee, K.S. and Nam, S.B.: Prevention of pectinolytic softening of kimchi tissue (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **21**(1), 149-153 (1989)
  8. Yoo, M.S., Kim, J.B. and Pyun, Y.R.: Changes in tissue structure and pectins of chinese cabbage during salting and heating (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **23**(4), 429-427 (1991)
  9. Ryu, B.M., Jeon, Y.S., Mood, G.S. and Song, Y.S.: The changes of pectic substances and enzyme activity, texture, microstructure of anchovy added kimchi (in Korean). *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **25**(3), 470-477 (1996)
  10. Kim, H.J., Lee, J.J., Cheigh, M.J. and Choi, S.Y.: Amylase, protease, peroxidase and ascorbic acid oxidase activity of kimchi ingredients (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **30**(6), 1333-1338 (1998)
  11. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J.: Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265-269 (1951)
  12. Hou, W.N. and Walker, B.L.: A study on the extraction of the most stable pectinesterase from valencia orange (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **27**(5), 658-665 (1995)
  13. Yu, E.J., Shin, M.S., Jhon, D.Y., Hong, Y.H. and Lim, H.S.: The changes of pectic substances of kimchi with different garlic contents during the fermentation period (in Korean). *Korean J. Soc. Food Sci.*, **4**(1), 59-63 (1988)
  14. Kyung, K.H., Park, K.S. and Kim, Y.S.: Isolation and characterization of bacteria resistant to the antimicrobial activity of garlic. *J. Food Sci.*, **61**(1), 226-229 (1996)
  15. Naganawa, R., Iwata, N., Ishikawa, K., Fukuda, H., Fujino, T. and Suzuki, A.: Inhibition of microbial growth by ajoene, a sulfur containing compounds derived from garlic. *Appl. Environ. Microbiol.*, **62**(11), 4238-4242 (1996)
  16. Koo, Y.J. and Choi, S.Y.: Preparation of kimchi. In *Science and technology of kimchi*. 2nd ed., KFRI, P. 75 (1991)

---

(1998년 9월 25일 접수)