

고추내 함유 Pectinesterase, Polygalacturonase, Lipoxygenase와 Peroxidase의 특성에 관한 연구

박 회 옥

경기전문대학 식품영양과

A Study of Pectinesterase, Polygalacturonase, Lipoxygenase and Peroxidase in Hot Pepper

Hee Ok Park

KyungKi Jr. College

Abstract

This study was carried out to investigate the characteristics of pectinesterase(PE), polygalacturonase(PG), lipoxygenase(LOX) and peroxidase(POD) in hot pepper to know the effect of hot pepper on food quality during food processing and storage. The results were as follows:

1. The optimum pH of PE was pH 7.5 and the activity of PE below pH 5.5 was revealed scarcely. The concentration of NaCl and CaCl₂ that showed the highest activity of PE were 0.2M and 0.05M, respectively.
2. The optimum pH of PG was pH 6.0 and the activity of PG in acidity was higher than that in alkalinity. The activity of PG was maximum at 0.3M NaCl and 0.2mM CaCl₂. Above the concentration of 0.5M NaCl and 0.5mM CaCl₂, the activity of PG was lower than that of PG not adding these salts.
3. The optimum pH of LOX was pH 7.0 and pH 8.5.
4. The optimum pH of POD was pH 6.0 and the activity of POD was higher in weak acidity and neutrality than in alkalinity. POD activity was slightly decreased by the increase of NaCl and CaCl₂ concentration.

Key words : pectinesterase, polygalacturonase, lipoxygenase, peroxidase, hot pepper

서 론

고추는 음식에 매운맛을 부여하고 정색제로의 역할을 하여 오래전부터 한국고유의 발효식품인 고추장, 김치 등의 첨가원료로 또 각종 요리의 양념으로 사용되고 있는 식품이다. 이와 같이 우리의 일상식품으로 많이 이용되고 있는 고추에 대하여 고추의 품종¹⁾, 특수성분 분석^{2~3)}, 건조 및 저장 중의 변색^{4~6)}, 건조과정 또는 건조후의 품질과 수분, 산소, 온도, 광선, 첨가제와의 관계^{7~9)}, 고추가공과 고추소비실태¹⁰⁾, 고추섭취와 성장과의 관계¹¹⁾, 미생물의 생육과 효소생산과의

관계¹²⁾ 등에 관한 연구들이 활발히 진행되어 왔으나, 고추자체내의 효소활성에 대하여는 거의 연구가 되어 있지 않다.

식품의 품질에 영향을 주는 효소에는 조직감과 관련이 있는 pectinesterase(PE), polygalacturonase(PG), 산화효소인 lipoxygenase(LOX) 그리고 식품의 이취와 색소 및 영양소 파괴와 관련이 있는 peroxidase(POD) 등을 들 수 있다. 식물조직에 존재하는 여러 종류의 효소들은 대부분이 세포내에 존재한다. 고추를 식품가공에 이용할 경우, 통고추나 마른 상태에서는 효소가 작용을 할 수 없으나, 가공식품내에서는 수분이 효소작용을 위한 좋은 매체로 기질을 용해 및

Corresponding author : Hee-Ok, Park

운반하는 역할을 수행하여 효소와 기질이 작용할 수 있도록 해주어 고추에 존재하는 효소들이 식품의 품질에 영향을 줄 것으로 사료된다.

따라서 본 논문에서는 식품가공 중에 고추를 양념으로 첨가하였을 때 고추가 함유한 효소가 식품가공 또는 저장중에 어떠한 영향을 미칠 것인가를 추정하고자 고추내 pectinesterase, polygalacturonase, lipoxygenase 및 peroxidase의 존재를 확인하고 활성을 측정하여 보고하고자 한다.

실험재료 및 방법

1. 실험재료 및 시약

효소활성을 측정하기 위하여 시중에서 붉은 고추 [*Capsicum annuum* L.]를 구입하여 사용하였다.

PE활성측정을 위해 사용한 기질은 9.5% methoxyl함량을 갖는 citrus pectin(No. P-9135, Sigma) 이었고, PG활성측정을 위해서는 polygalacturonic acid(No. P-3889, Sigma)와 DNS(dinitrosalicylic acid, No. D-1510, Sigma)를 사용하였다. LOX활성 측정을 위해서 linoleic acid(No. P-1376, Sigma)를, POD활성 측정을 위해서는 guaiacol(No. G-5502, Sigma)을 사용하였다.

기타 실험에 사용한 시약들은 특급 혹은 1급시약을 사용하였다.

2. 효소의 추출

고추의 지질과 색소를 제거하기 위하여 아세톤을 가하고 1분동안 블렌더로 갈아준 후 수류펌프에 연결하여 Whatman No. 1로 여과하여 아세톤을 제거하고 상기동작을 반복 수행한 후 잔사에 아세톤을 가하여 씻어 주기를 수회 반복하였다. 탈지한 고추가루를 후드안에서 아세톤을 날려보내고 테시케이터에 하루밤 방치한 다음 냉동보관하면서 시료로 사용하였다.

준비한 시료 30g에 0.3M NaCl 500ml(pH 6.5 potassium phosphate buffer)를 가하고 2시간 동안 교반하면서 효소를 추출하고 5,000×g(Hitachi, 20 PR-5)에서 원심분리하였다. 상층액에 25~70% ammonium sulfate 포화액으로 단백질을 석출시키고 9,000×g에서 원심분리하여 얻은 침전물을 투석하여

효소액으로 사용하였다.

3. 효소의 활성 측정

1) pectinesterase(PE) 활성 측정

PE의 활성은 박^[13]의 방법에 따라 측정하였다.

PE의 역기는 단백질 1mg이 pH 7.0의 펩틴에서 1×10^{-7} M의 카르복실기를 유리시킬 때 1단위로 나타내었다.

2) Polygalacturonase(PG) 활성 측정

PG 활성은 효소의 작용으로 펩틴에서 유리되는 환원당인 galacturonic acid의 함량을 DNS에 의한 비색법으로 측정하였다^[15].

0.45% polygalacturonic acid 용액 (0.1M NaCl 함유 0.03M 완충액) 0.48ml에 효소액 0.02ml를 넣고 30°C 항온조에서 교반하면서 2시간 동안 반응시켰다. 100°C 수조에서 3분간 끓여 효소를 불활성화시킨 다음 0.1N NaOH 0.5ml를 넣어 알칼리용액으로 만든 후 DNS용액 1ml를 가하고 다시 100°C 수조에서 5분간 끓였다. 곧, 흐르는 물에 냉각시키고 증류수 5ml를 넣어 충분히 혼합시킨후 2,500×g에서 5분간 원심분리하였다. 공실험은 기질용액에 불활성화시킨 효소액을 첨가한 다음 위의 과정을 똑같이 거쳤다. 520nm에서 흡광도를 측정하여 α-D-galacturonic acid로 만든 표준곡선에서 환원당의 양을 구했다.

PG의 역기는 단백질 1mg이 2시간 동안 1mg의 환원당을 생성할 때를 1단위로 정하였다.

3) Lipoxygenase(LOX) 활성 측정

효소활성 측정에 필요한 기질 용액은 Yoon^[15]의 방법에 의거하여 다음과 같이 준비하였다.

50ml volumetric flask에 0.2ml tween 80을 넣고 0.2ml linoleic acid를 가하였다. Linoleic acid용액이 맑아질 때까지 0.1N-NaOH를 첨가한 다음 증류수를 가하여 50ml로 만들었다. 준비한 linoleic acid 용액 1에 완충액 5의 비율로 희석하여 효소활성을 위한 기질 용액으로 사용하였다.

효소활성은 lipoxygenase에 의해 생성되는 과산화물의 양을 234nm에서 흡광도 0.001증가를 1단위로 나

타내었다.

4) Peroxidase(POD) 활성 측정

POD의 활성은 박^[13]의 방법에 따라 측정하였다.

0.05M완충액 2.4ml에 효소액 0.15ml, 150mM guaiacol 0.3ml를 가하였다. 여기에 100mM H₂O₂를 넣고 잘 저어준 다음 곧 470nm에서의 흡광도증가를 측정하였다.

효소활성 1단위는 1분 동안 단백질 1mg에 의해 470nm의 흡광도를 1.0 증가시키는 활력을 말한다.

5) 단백질농도 측정

효소액의 단백질농도는 bovine serum albumin을 표준단백질로 사용하여 Lowry방법^[16]으로 측정하였다.

결과 및 고찰

1. Pectinesterase(PE)의 활성

PE는 페틴을 구성하는 galacturonic acid의 C6위치에 존재하는 methoxyl기를 떼어내어 카르복실기를 유리시켜 식물조직의 경도를 갖게하는 효소이다. 즉, PE의 작용으로 페틴 분자 사이에 유리된 카르복실기는 Ca⁺⁺과 같은 2가의 양이온이 존재하면 페틴분자 사이에 cross linkage가 형성되어 polygalacturonase에 의한 페틴분해가 방지되고 식물조직에 더욱 견고한 질감을 가지게 한다.

고추에 존재하는 PE는 Fig. 1에서 보는 바와 같이

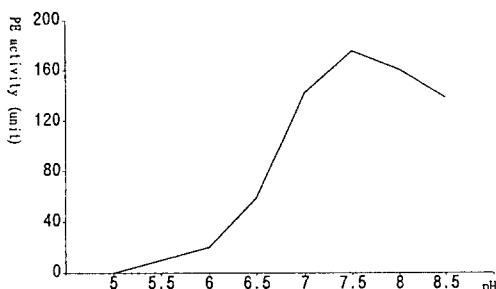


Fig. 1. pH profile of pectinesterase activity in hot pepper.

pH 7.5에서 최고 활성을 보였으며 pH 5.5이하에서는 활성이 거의 나타나지 않았다. 이와 같은 결과는 배추^[17], 무^[18], 마늘^[13], 생강^[13], 토마토^[19], 오이^[20], 감귤류^[21] 등과 같은 고등식물에 존재하는 PE의 최적 pH와 거의 일치하였다. 따라서 고추에 존재하는 PE도 상기 고등식물의 PE와 마찬가지로 식품을 가공 저장시에 그 식품의 경도에 영향을 미치지 않을 것으로 사료되며 고추 PE의 활성화를 위해서는 고추가 첨가되는 pH를 중성 내지는 약알칼리성으로 미리 조절하여 PE의 활성을 이용하여 조직에 경도를 부여한 후 pH를 다시 원래의 pH로 환원시키는 것이 바람직할 것으로 사료된다. NaCl과 CaCl₂ 같은 염류가 PE의 활성에 미치는 영향을 연구한 결과 NaCl의 경우(Fig. 2) 0.2M농도에서, CaCl₂의 경우 (Fig. 3) 0.05M농도에서 최대활성을 보여주어 다른 고등채소의 경우와 유사하였다. 이상의 결과 적정량의 NaCl과 CaCl₂를 사용한다면 식품의 경도를 증가시킬 수 있을 것이다.

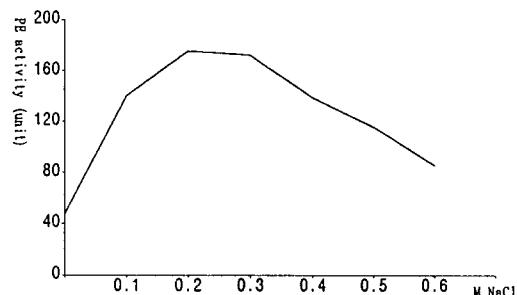


Fig. 2. Effect of NaCl on pectinesterase activity in the hot pepper.

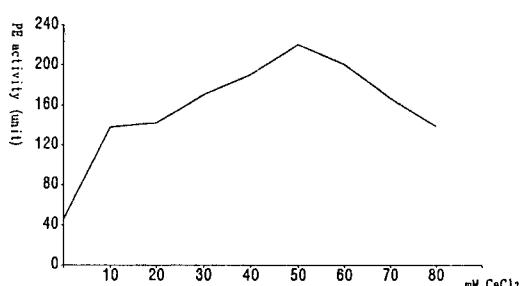


Fig. 3. Effect of CaCl₂ on pectinesterase activity in the hot pepper.

2. Polygalacturonase(PG)의 활성측정

펙틴분해효소인 PG는 펙틴의 glucosidic linkage를 가수분해하여 펙틴의 분자량을 작게하고 수용성 물질을 증가시키므로 식물세포조직의 연부현상을 초래한다고 알려져 있는 효소이다. 고추에 존재하는 PG는 pH 6.0에서 최대활성을 보였으며 알칼리쪽으로 갈수록 활성이 아주 미약해졌다(Fig. 4). 이러한 현상은 배추, 무우, 마늘 및 생강에 존재하는 PG가 pH 5.5에서 최대활성을 가지며 pH 7.0이상에서는 활성을 나타내지 않았다는 박 등¹³⁾의 보고와 거의 유사하였다.

따라서 고추에 존재하는 PG도 다른 고등식물의 PG와 같이 식품을 가공 저장할 때 식품의 경도를 저하시키고 연부현상을 가져오게 할 것으로 생각되어 PG의 활성을 억제하는 것이 바람직 할 것으로 사료된다.

NaCl과 CaCl₂가 고추의 PG에 미치는 영향을 알아본 결과는 Fig. 5와 Fig. 6과 같다. NaCl 0.3M농도까지는 활성이 증가하다가 이후 억제되기 시작하여 NaCl을 첨가하지 않았을 때보다 활성이 낮아졌으며, CaCl₂도 0.2mM농도까지는 활성이 증가되었다가 NaCl과 마찬가지로 이후는 억제되었다. 이와 같은 결과는 박 등¹³⁾, 육 등¹⁸⁾ 그리고 백 등²²⁾의 결과와 유사하였다. 정 등²³⁾은 배추 PG의 경우 0.3M NaCl에서 최대활성을 보이며 0.6M 이상에서 저해를 받고 0~0.5mM CaCl₂에는 영향을 받지 않으나 0.8mM이상에서는 저해를 받는다고 하였다. 박 등¹³⁾은 배추, 무, 마늘, 생강 등이 0.2M NaCl근처에서 최대활성을 보인

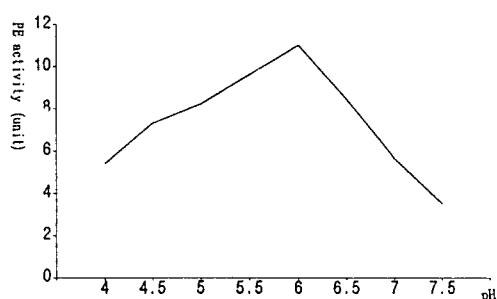


Fig. 4. pH profile of polygalacturonase activity in hot pepper.

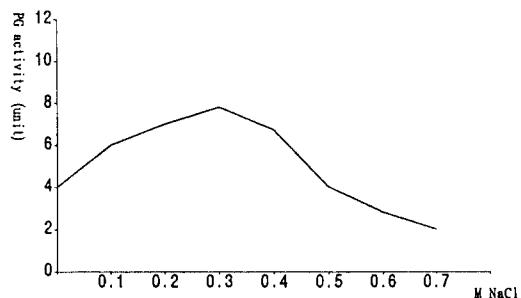


Fig. 5. Effect of polygalacturonase activity in hot pepper.

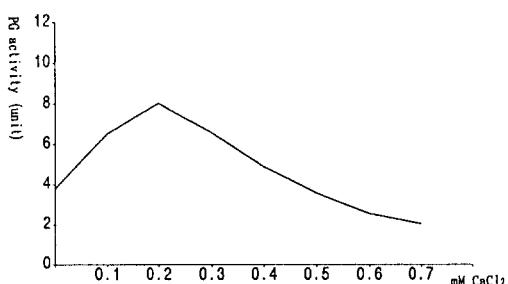


Fig. 6. Effect of CaCl₂ on polygalacturonase activity in hot pepper.

후 0.3M이상에서는 오히려 저해작용을 한다고 하였으며 CaCl₂의 경우 0.2mM에서 최대활성을 보인 후 0.3mM이상에서는 CaCl₂에 의해 억제된다고 하였다. 따라서 조직의 연화방지를 위해서는 식품 가공 저장시에 첨가되는 NaCl과 CaCl₂의 농도가 매우 중요할 것으로 보인다. 이같은 사실로부터 이²⁴⁾의 조리과학적 연구에서 배추를 저농도의 소금용액에서 장시간 절이는 것보다 15~20%의 소금용액에서 3~6시간 절이는 것이 김치의 품질에 가장 좋다고한 사실을 설명할 수 있을 것이다.

3. Lipoxygenase(LOX)

주요한 산화효소중의 하나로 식물계에 널리분포되어 있는 LOX는 불포화지방산의 산화에 촉매제로 관여하여 과산화물을 형성한다. 또한 불포화지방산 산화

과정에서 부수적인 반응으로 carotene 및 chlorophyll 같은 색소를 탈색시킨다²⁵⁾. LOX에 의한 유지의 산화 과정에 따른 과산화물의 생성은 매우 낮은 온도에서도 일어나므로 LOX가 식품내에 존재할 때 식품가공 및 저장시에 식품의 품질에 영향을 미친다. 즉, LOX는 변형, 카로텐류와 비타민류의 산화파괴에 관여하는 것으로 연구되어지고 있다.

고추내에 존재하는 LOX는 pH 7.0과 pH 8.5 부근에서 활성이 크게 나타났으며 따라서 isoenzymes이 존재할 것으로 보인다(Fig. 7). Walsh 등²⁶⁾은 LOX 와 아스코르빈산의 관계에서 아스코르빈산은 LOX의 탈색능력은 억제하나 산화물의 생성은 억제하지 못하였다고 하여 아스코르빈산이 LOX에 의한 탈색을 억제할 수 있음을 밝혀내었다. 이러한 사실로부터 고추 가루 가공시에 LOX의 기질이 되는 지방산의 함량을 줄이기 위하여 고추씨를 제거하는 것이 바람직할 것으로 생각된다.

4. Peroxidase(POD)의 활성

식품에서 독특한 풍미를 내는 물질을 생성할 것으로 추정되는 POD는 고온에서 안정한 hemoprotein으로 식품의 열처리 기준이 되는 효소이다. 대부분의 경우 산화생성물이 짙은 색을 띠어 효소활성을 색의 농담으로 측정할 수 있게 해준다. POD는 분자량이 42,000근처이며 isoenzyme이 상당히 많이 있는 것으로 알려져 있다. 오이피클에 있어서 POD활성이 높을 때 아취 및 색갈변화와 관련이 있다고 하여, 오이피클을 저장하는 동안의 POD활성을 측정하였을 때 시일이 지남에 따

라 오이피클 조직내에서 POD활성이 점차 감소하는 경향을 보여 주었다고 하였다^{27,28)}. Stutle은²⁹⁾ 복숭아가 산화갈변되는 과정에서 POD가 갈변정도와 상관관계가 있음을 computer image를 통해 보여주었다.

고추내 POD활성은 매우 높았으며 pH 6.0에서 최대활성을 나타내었는데 대체로 약산성과 중성에서 활성이 크게 나타났다(Fig. 8). 이와 같은 현상은 POD의 최적활성 pH가 배추¹³⁾ pH 6.0, 무¹³⁾ pH 5.5, 마늘¹³⁾ pH 4.5, 생강¹³⁾ pH 5.0~5.5, 돼지감자³⁰⁾ pH 5.0이라고 한 연구들과 유사하였다. NaCl과 CaCl₂ 농도가 POD활성에 미치는 영향은 Fig. 9와 Fig. 10에 나타난 바와 같다. NaCl을 첨가하였을 때 POD활성은 점차감소하였으며, CaCl₂의 경우엔 약간 증가하는 듯 하다가 5mM이상에선 역시 감소하는 경향을 보여 주었다. 박 등¹³⁾은 배추 POD의 경우 이를 염의 증가에 따라 활성변화가 없었으며 무, 마늘, 생강의 경우엔 약

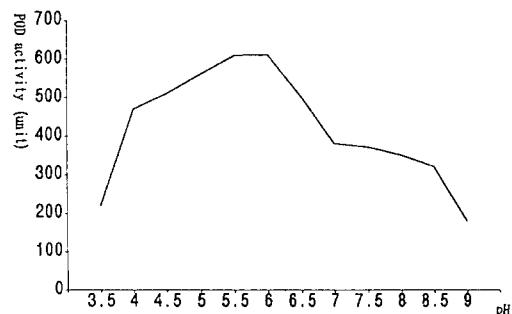


Fig. 8. pH profile of peroxidase activity in hot pepper.

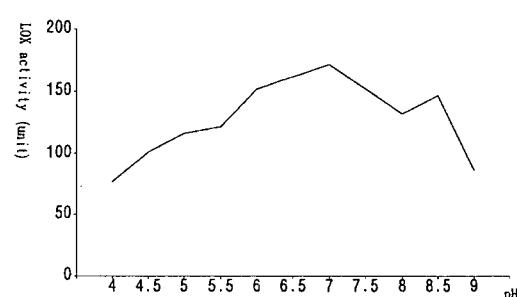


Fig. 7. pH profile of lipoxygenase activity in hot pepper.

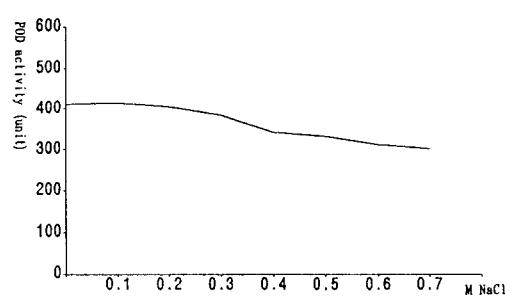


Fig. 9. Effect of NaCl on peroxidase activity in hot pepper.

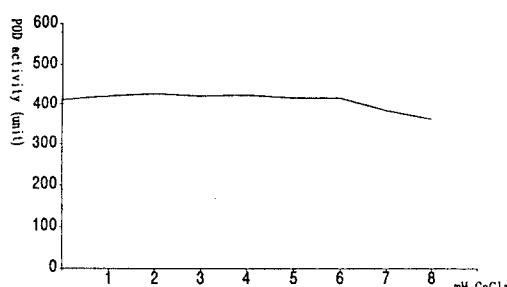


Fig. 10. Effect of CaCl_2 on peroxidase activity in hot pepper.

간의 감소현상이 있다고 하여 후자의 경우와 본 연구와 유사하였으나, 윤 등³⁰⁾은 Ca^{++} 이 돼지감자 POD의 활성촉진제라고 한 실험결과와는 차이가 있었다. 이와 같은 결과 고추함유 POD는 약산성과 중성에서 활성이 크므로 식품의 가공과 저장시에 영향을 끼칠 것으로 사료되나, NaCl 이나 CaCl_2 같은 염에 의하여 활성이 어느정도 억제되므로 이를 염을 적정량 사용하는 것이 바람직 할 것으로 사료된다.

요 약

본 연구는 고추가 함유한 효소들이 식품의 가공과 저장시에 어떠한 영향을 미칠 것인가를 추정하고자 pectinesterase(PE), polygalacturonase(PG), lipoxygenase(LOX) 및 peroxidase(POD)의 특성을 조사하였다. 그 결과는 다음과 같다.

1. PE는 pH 7.5에서 최대활성을 보였으며 pH 5.5 이하에서는 활성이 거의 나타나지 않았다. NaCl 과 CaCl_2 첨가의 경우 각각 0.2M과 0.05M에서 최대활성을 보였으며, NaCl 과 CaCl_2 가 PE의 활성촉진제로 작용하였다.
2. PG는 pH 6.0에서 최대활성을 보였으며 일칼리 성에서보다 산성에서 활성이 컸다. NaCl 과 CaCl_2 첨가의 경우 각각 0.3M과 0.2mM에서 최대활성을 보였으며 이후 점차 감소하여 이를 염을 첨가하지 않았을 때보다도 활성이 감소하였다.

3. LOX는 pH 7.0과 pH 8.5에서 최대활성을 보였다.
4. POD는 pH 6.0에서 최대활성을 보였고 대체로 약산성과 중성 사이에서 활성이 크게나타났다. NaCl 과 CaCl_2 같은 염은 POD활성에 약간의 저해제로 사용되었다.

참고문헌

1. 신현희, 이서래 : 한국산 고추의 품종 및 재배지역에 따른 품질 특성, 한국식품과학회지, 23(3), 296(1991)
2. Sass, N.L., Rounsvill, M. and Combs, H. : A high-yield method for the extraction and purification of capsaicin, *J. Agric. Food Chem.*, 25(6), 1419(1977)
3. Gregory, G.K., Chen, T.S. and Philip, T., Quantitative analysis of carotenoids and carotenoid esters in fruits by HPLC:red bell peppers, *J. Food Sci.*, 52(4), 1071(1987)
4. 전재근, 서정식 : 일광노출이 고추가루의 탈색에 미치는 영향, 한국식품과학회지, 12(2), 82-87(1980)
5. 김동연, 이종욱 : 건조고추저장 중의 변색에 관한 연구, 한국식품과학회지, 12(1), 53(1980)
6. 이성우 : 녹숙고추의 저온저장에 따른 종자갈변에 관한 생리화학적 연구, 제1보, 종자갈변에 관계되는 기질과 중간대사성분의 변화, 한국식품과학회지, 3(1), 29(1971)
7. 김현구, 박무현, 민병용, 서기봉 : 저장상태습도 및 온도에 따른 분말고추의 흡습특성, 한국식품과학회지, 16(1), 108(1984)
8. 김공환, 전재근 : 고추의 열풍건조가 품질에 미치는 영향, 한국식품과학회지, 7(2), 69 (1975)
9. 김동연, 이종욱, 신수철 : 고추의 전조 및 마쇄방법에 따른 변색, 한국농화학회지, 25(1), 1(1982)
10. 박상기, 전재근 : 한국인의 고추식 생활에 관한 조사연구, 한국농화학회지, 20(1), 95(1977)
11. 이일섭, 이갑상, 김현오 : 고추 [*Capsicum annuum* L.]가 병아리의 성장을과 휴식시대사에 미

- 치는 영향, *한국농화학회지*, 19(1), 57-61(1976)
12. 이택수, 박윤중 : 국균의 효소생산 및 생육에 미치는 고추가루의 영향에 관한 연구, *한국농화학회지*, 19(4), 227-232(1976)
13. 박회옥, 김기현, 윤선 : 김치재료에 존재하는 Pectinesterase, Polygalacturonase 및 Peroxidase 특성에 관한 연구, *한국식문화학회지*, 5(4), 443(1990)
14. 정동효, 장현기 : 최신식품분석법, *식품규격공정시험법*, pp131-133, 삼중당(1985)
15. Yoon, S. and Klein, B.P. : Some properties of pea lipoxygenase isoenzymes, *J. Agric. Fd. Chem.*, 27, 955(1979)
16. Lowry, O.H., Rousebroug, N.I., Farr, A.L. and Randall, R.J. : Protein measurement with the folin phenol reagent, *Biol. Chem.*, 193, 265(1951)
17. 고영환, 박관화 : 배추 페틴에스터라제의 정제 및 특성, *한국식품과학회지*, 16(20), 235(1984)
18. 육철, 장금, 박관화, 안승요 : 예비염처리에 의한 무우김치의 연화방지, *한국식품과학회지*, 17(6), 447(1985)
19. Lee, M. and MacMillan, J.D. : Mode of action of pectic enzymes, 1. Purification and certain properties of tomato pectinesterase, *Biochem.*, 7(11), 4005(1968)
20. 김기현 : 오이와 오이지에서 pectinesterase와 polygalacturonase의 특성 및 활성변화에 관한 연구, 연세대학교 석사학위논문(1988)
21. Manabe, M. : Purification and properties of citrus natsudaidai pectinesterase, *Agric. Biol. Chem.*, 37(6), 1487(1973)
22. 백형희, 이차희, 우현덕, 박관화, 이규순, 남상봉 : 페틴분해 효소를 이용한 김치조직의 연화 방지, *한국식품과학회지*, 21(1), 149(1989)
23. 정태규, 문태화, 박관화 : 배추 PG의 열안정성, *한국식품과학회지*, 25(5), 576(1993)
24. 이혜수 : 김치에 대한 조리과학적 연구, *대한가정학회지*, 35(1), 617(1972)
25. Faubion, J.M. and Hoseny, R.C. : LOX:It's biochemistry and role in breadmaking, *Cereal Chem.*, 58, 175(1981)
26. Walsh, D.E., Youngs, V.L. and Gilles, K.A. : Inhibition of durum wheat LOX with L-ascorbic acid, *Cereal Chem.*, 47, 119(1970)
27. Buescher, R.W. and McGuire, C. : Peroxidase activities in cucumber pickle products, *J. Food Sci.*, 51(4), 1079(1986)
28. Buescher, R.W., McGuire, C.R. and Skulman, B. : Catalase, lipoxygenase and peroxidase activities in cucumber pickles as affected by fermentation, processing and calcium chloride, *J. Food Sci.*, 52(1), 228(1987)
29. Stutle, G.W. : Quantification of net enzymatic activity in developing peach fruit using computer video image analysis, *Hort. Sci.*, 24, 113(1989)
30. 윤은석, 강수정, 오봉수, 최언호 : 배지감자 peroxidase의 분리와 특성, *한국식품과학회지*, 25(5), 565(1993)

(1996년 2월 8일 수리)