

## 고추과실 세포벽 다당류의 연화에 따른 변화

金順東 · 尹水弘\* · 姜明秀 · 朴南淑

효성여자대학교 식품가공학과  
\*효성여자대학교 약학과  
(1986. 4. 28 접수)

## Softening Related Changes in Cell Wall Polysaccharides of Hot Pepper Fruit

Soon-Dong Kim, Soo-Hong Yoon\*, Meung-Su Kang and Nam-Sook Park

*Department of Food Science and Technology, Hyosung Women's University*

*\*Department of Pharmacy, Hyosung Women's University*

*(Received April, 28, 1986)*

### Abstract

Various cell wall polysaccharides such as IAP(ionically associated pectin), CBP(covalently bounded pectin), HF(hemicellulosic fraction) and CF(cellulosic fraction) were fractionated by chemical method from hot pepper fruit cell wall during ripening and softening. And then, the composition of the polysaccharides were determined.

The IAP and CBP were composed of 65~88% polyuronide, 4~29% hemicellulose and 0.3~2.1% cellulose. And hemicellulose also contained 8~13% polyuronide and 0.1~1.1% cellulose. The containing ratio of hemicellulose associated with the CBP was higher than IAP. All of the polysaccharides except CF decreased by the turning stage showed softening. The polyuronide made up IAP changed little but, that of the CBP increased during softening owing mainly to decrease of the hemicellulose that was bounded to the CBP and was mostly linked to galactose.

### 서 론

토마토, 사과 등 대부분의 과실에서 볼 수 있는 연화(softening)는 세포벽 구성 pectin질의 변화에 기인되는 것으로 알려져 있으나<sup>1)</sup>, 한편으로는 이들 변화와 동시에 hemicellulose의 변화도 관찰되고 있어<sup>2)</sup> 정확한 연화기전에 대하여는 아직도 많은 의문점이 있다.

전보<sup>3)</sup>에서는 적변 개시 고추에서 볼 수 있는 연화현상을 구체적으로 파악하기 위하여 poly-

galacturonase(PG)와 hemicellulose의 함량변화 및  $\beta$ -galactosidase의 활성변화를 조사하였는데 hemicellulose의 급격한 저분자화와 동시에  $\beta$ -galactosidase활성의 증가가 관찰되었고, PG의 활성은 검출되지 않았다.

본 연구에서는 이러한 현상을 세포벽 다당류의 구조적인 측면에서 관찰하기 위하여 화학적인 방법<sup>4)</sup>에 의하여 세포벽 구성 다당류를 분획하고, 분획된 다당류의 조성변화를 연화와 관련하여 검토하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 재 료

실험용 고추는 신미종(*Capsicum annuum* L, CV. Choorahong)으로서 진보<sup>3)</sup>에서와 같이 개화후 20일째의 미숙과(immature green, IG), 30일째의 완숙과(mature green, MG), 48일째의 적변개시과(turning, T: 30~40% red surface color) 및 60일째의 완적과(red ripe, RR)를 각각 사용하였다.

### 2. 조세포벽의 추출

Selvendran<sup>5)</sup>과 Jarvis등<sup>4)</sup>의 방법에 따라 고추 과피 100g을 Chloroform용액에 30분간 담근 후 200ml의 20mM Hepes(N-2-hydroxyethylpiperazine-N'-2-ethane sulfonic acid)-NaOH용액(pH 6.9)으로 균질화하여 miracloth(Calbiochem.)로 여과하였다. 잔사는 mg/ml의  $\alpha$ -amylase를 함유하는 동일한 Hepes용액에 현탁시켜 37℃에서 24시간 반응시키고 반복 세척하였다. 이렇게하여 얻은 잔사는 다시 chloroform-methanol (1:1, v/v) 용액에 현탁시켜 2시간 동안 방치한 후 acetone으로 무색이 될 때까지 세척하였으며, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>를 넣은 감압건조기(37℃)에서 1주야 동안 두면 서 충분히 건조시켜 조세포벽으로 하였다.

### 3. 세포벽 다당류의 분획

조세포벽으로부터 세포벽 다당류의 분획은 Jarvis등<sup>4)</sup>과 Jarvis<sup>6)</sup> 및 Gross등<sup>7)</sup>의 방법에서와 같이 조세포벽 1g에 50mM CDTA(trans-1,2-diaminocyclohexane-N,N,N',N'-tetraacetic acid)를 함유하는 50mM의 Na-acetate buffer용액(pH 6.5) 100ml를 가하여 25℃에서 6시간 동안 추출하고 잔사는 동일한 buffer 용액으로 반복 추출한 후 여과액을 모아서 membrane tubing(Spectrum Medical Industries, Inc., M.W. cut off: 6,000~8,000)에 넣어 magnetic stirrer를 사용하여 계속 저어주면서 4℃의 압소에서 72시간 투석, 동결건조하여 이온결합성 pectin(ionically associated pectin, IAP)으로 하였다. 투석용액은 증류수로 하였으며 3회 교환하였다.

공유결합성 pectin(covalently bounded pectin,

CBP)은 IAP를 추출하고 남은 잔사에 2mM CDTA를 함유하는 50mM의 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 100ml를 가하여 4℃에서 20시간, 25℃에서 1시간 동안 현탁시킨 후 얻은 여액을 같은 방법으로 투석, 동결건조한 것으로 하였다.

Hemicellulosic fraction(HF)은 조세포벽으로부터 IAP와 CBP를 제거한 잔사에 0.1M NaBH<sub>4</sub>를 함유하는 4N KOH 용액을 가하여 1시간 동안 추출, acetic acid로 중화하여 투석, 동결건조하였으며 남은 잔사를 증류수로 KOH가 완전히 제거될 때까지 세척, 건조시켜 cellulosic fraction(CF)으로 하였다.

### 4. Polyuronide의 함량측정

조세포벽분획물 10mg에 c-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 vortex상에서 가하여 분해시킨 후 carbazole시약<sup>8)</sup>으로 반응시켜 530nm에서의 흡광도를 측정하였으며, 표준품 galacturonic acid의 검량선( $\mu\text{g}/0.5\text{ml} = \text{OD} \times 84.1 - 1.84, r = 0.997$ )에 의하여 함량을 산출하였다.

### 5. 비섬유성 중성당(non-cellulosic neutral sugar)의 측정

세포벽분획물 10mg에 내부 표준물질로써 0.5mg/ml의 myo-inositol을 함유하는 2N TFA용액을 가하여 121℃에서 1시간동안 autoclave하고 50℃에서 N<sub>2</sub> gas 기류하에서 건조시킨 후, 30mg의 hydroxylamine-HCl을 함유하는 0.5ml의 pyridine 용액을 가하여 100℃에서 30분간 가열한 후 냉각하였다. 여기에 0.5ml의 acetic anhydride를 가하여 100℃에서 20분간 반응시켜 aldonitrile acetate-유도체<sup>9)</sup>로 만들어 gas chromatography를 행하였다.

### 6. Cellulose의 함량 측정

조세포벽으로부터 분획된 각 세포벽 다당류 100mg을 2N TFA와 함께 시험관에 넣어 봉한 후 121℃에서 1시간 동안 autoclave하고, 이때 불용성의 잔사를 모아 78% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 분해시켜 anthrone법<sup>10)</sup>으로 측정하여 glucose의 검량선에 의하여 함량을 산출하였다.

결과 및 고찰

1. 세포벽 다당류의 함량변화

고추는 신미 향신료로 널리 알려진 식품으로, 최근 우리나라에서 채소중에 재배면적이 가장 높은 작물의 하나로 건조용 뿐만 아니라 풋고추로서 연중 시판되고 있다. 고추의 성숙중에는 개화 후 40~48일을 전후하여 착색되기 시작하며, 60일이 되면 나무에 달린 채 완적과가 된다.

또 과실이 착색될 때에는 숙성촉진 hormone의 하나인 ethylene이 생성되고 이시기를 중심으로 하여 연화가 일어난다<sup>11)</sup>.

과실의 연화는 세포벽 다당류의 변화에 기인되며<sup>12)</sup>, 과실에 따라서 서로 다른 변화 양상을 보이지만<sup>13)</sup>, 대개 pectin질의 변화에 의한 것이 많다. 고추의 연화현상을 조사하기 위하여 전보<sup>3)</sup>에서는 pectin질의 분해에 관여하는 polygalacturonase(PG)의 활성과 galactose β-1,4결합을 분해시키는 β-galactosidase의 활성변화를 조사한 결과 PG의 활성은 검출되지 않는 반면 β-galactosidase의 활성이 크게 나타나서 연화와 관련된

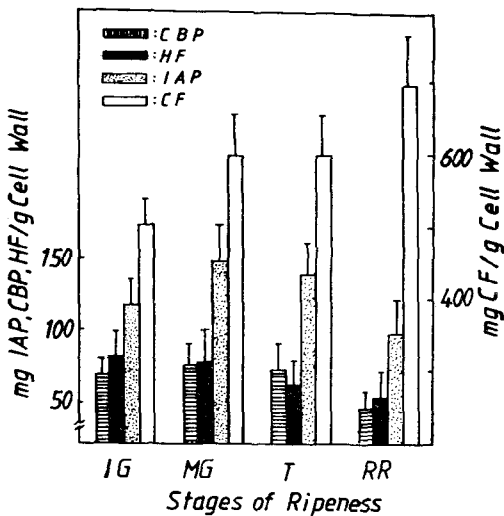


Fig. 1. Changes in total amount (dry wt) of fractions extracted from isolated hot pepper fruit cell wall material at various stages of ripeness. Abbreviation: CBP, covalently bounded pectin; HF, hemicellulosic fraction; IAP, ionically associated pectin; CF, cellulosic fraction; IG, immature green; MG, mature green; T, turning; RR, red ripe.

세포벽 다당류의 변화에 많은 의문점이 있었다. 이러한 의문점을 조사하기 위하여 성숙단계별 조세포벽을 시료로 하여 구성 다당류를 화학적인 방법으로 분획하여 그 함량 변화를 살펴보았다 (Fig. 1).

그 결과 CF의 함량은 조세포벽 g당 500~700mg으로 전 숙성기간을 통하여 증가하는 양상이다. 따라서 cellulose의 변화가 연화에 미치는 영향이 근소함을 알 수 있으며, 과실의 연화중 cellulose 함량과 cellulase 활성변화를 조사한 타 연구결과<sup>13)</sup>와도 일치한다. 그리고 연화가 일어나는 T 이후에 cellulose의 함량 증가현상에 대하여는 몇 년 구자<sup>12)</sup>들이 지적하고 있는 바와 같이 연화시에 세포벽 다당류로부터 분해된 당류가 turn over 되는 것으로 짐작된다. HF의 함량은 MG에 이르기까지는 비슷하였으나 T이후에 급격히 감소하였으며, 이것은 이 시기에 β-galactosidase 활성이 증가한 현상<sup>3)</sup>과 관련이 있다고 생각된다. Huber<sup>2)</sup> 등은 토마토 연화시에 hemicellulose의 급격한 함량감소를 보고하였으며, 이러한 현상은 연화와 함께 일어나는 저분자화에 기인된다고 하였다.

또 IAP와 CBP도 MG에서 가장 높았다가 T이후 연화되는 시기와 동시에 비교적 큰 감소를 보였다. 이러한 현상은 PG의 활성이 나타나지 않는 것<sup>3)</sup>과 상반되는 현상으로서 큰 의문점이라 하겠으며, IAP와 CBP의 구체적인 조성을 조사함으로써 파악할 수 있으리라 생각된다.

2. 세포벽 다당류의 조성변화

상기에 대한 의문점은 세포벽 다당류의 조성변화의 측면에서 살펴 볼 목적으로 조세포벽으로부터 세포벽 다당류를 화학적인 방법<sup>4)</sup>에 따라 분획하였다. 화학적 방법에 의한 분획법은 다당류 개체를 순수하게 분리시키는 것이 거의 불가능한 일이며 대개 이들과 결합된 타 성분이 함께 추출된다<sup>2),14)</sup>. 이같은 타성분의 혼합상태는 추출 직전에 생체내에 존재하는 각종 세포벽 다당류의 분해에 관여하는 효소들의 작용상태를 나타내는 것이라 하겠으며 이를 통하여 연화시의 효소작용에 대한 상태를 파악할 수 있다.

table 1에서는 고추의 성숙단계별 세포벽 다당류를 시료로 구성 polyuronide와 cellose함량 및 비섬유성 세포벽 다당류 유래의 중성당의 함량을

**Table 1. Changes in polyuronide, non-cellulosic neutral sugar and cellulose content composed of cell wall fractions fractionated from crude cell wall at various stages of ripeness of hot pepper fruit** (mg/100mg, fraction)

Fraction	Stages	Polyuronide	Non-cellulosic neutral sugar <sup>1)</sup>	Cellulose
IAP	IG	88.48	5.12	0.90
	MG	82.24	11.60	1.17
	T	83.53	5.01	0.32
	RR	86.63	4.42	1.82
CBP	IG	66.26	29.74	1.76
	MG	65.21	29.46	1.51
	T	76.36	11.96	2.12
	RR	82.30	9.30	1.14
HF	IG	8.60	88.66	0.28
	MG	11.50	80.29	1.09
	T	13.42	78.48	0.64
	RR	10.62	78.96	0.15
CF	IG	17.96	12.78	60.01
	MG	14.19	13.27	63.34
	T	12.16	13.38	60.97
	RR	13.57	14.30	61.54

1) The values of non-cellulosic neutral sugar were represented total values of gas chromatographic results (Table 2).

조사하였다.

그 결과 IAP와 CBP에서는 polyuronide가 65~88%, 비섬유성 세포벽 다당류 유래의 중성당 즉 hemicellulose 유래의 중성당이 4~29%, cellulose는 0.3~2.1%를 함유하였다. 또 IAP는 CBP보다 polyuronide 함유율이 높은 반면에 비섬유성 중성당과 cellulose는 CBP쪽이 현저하게 높았다. 그리고 IAP의 구성 polyuronide는 성숙에 따라 큰 변화를 보이지 않았으나, CBP에서는 증가하는 양상을 보였으며, 비섬유성 중성당은 IAP와 CBP는 T에서 각각 56.8%, 59.4%의 감소를 보였다.

상기의 결과에서 IAP, CBP 등의 pectin질은 hemicellulose와 결합되어 있고, 또 이들이 cellulose와 연결되어 있음을 알 수 있으며, IAP보다 CBP에서 hemicellulose의 함유율이 높음을 보아서 CBP쪽이 이들과 더 많은 결합을 하고 있음을 짐작할 수 있다.

또 성숙 연화되는 동안 IAP 일정량을 구성하는 polyuronide의 함량은 88%에서 86%로 큰 변화를 보이지 않는 반면에 CBP에서는 66%에서 82%로 큰 증가를 보이고 있으며, IAP에 결합된 he-

micellulose 유래의 당은 5%에서 4%로 CBP에 결합된 것은 29%에서 9%로 CBP에서 큰 감소를 보이고 있다. 이것은 전보<sup>3)</sup>에서 언급한 바와 같이 고추의 성숙 연화중에 PG의 활성이 검출되지 않고 오히려  $\beta$ -galactosidase의 활성이 증가하는 현상으로 보아서 연화가 pectin질에서 오는 변화에 기인된다고 하기보다 pectin질과 결합한 hemicellulose의 저분자화로 인한 현상에 더욱 크게 기인된다고 할 수 있으며, 그 결과 CBP의 구성 polyuronide의 상대적인 증가를 나타낸 것이라 하겠다.

그러나 실제 분획된 hemicellulose에서 보면 이의 분해물로부터 측정된 비섬유성 중성당의 함량이 MG 80%에서 RR 79%로 큰 변화를 보이지 않고 있다.

이러한 결과들에서 볼 때 pectin질과 결합한 hemicellulose는 여러 종류의 다당류들로 구성되어 있다고 보겠으며, pectin질과 hemicellulose를 연결하는 부분은 galactan으로 생각되며, 연화시에 나타나는  $\beta$ -galactosidase의 활성증가<sup>3)</sup>와 더불어 pectin과 hemicellulose의 연결부인 galactan이 분해되는 것을 기점으로 연화가 이루어 진다

**Table 2. Changes in non-cellulosic neutral sugar composition of cell wall fractions fractionated from crude cell wall at various stages of ripeness of hot pepper fruit**  
(mg/100mg. fraction)

Fraction	Stages	Non-cellulosic neutral sugar						Total
		Rha	Ara	Xyl	Man	Glc	Gal	
IAP	IG	0.74	1.81	0.40	—	—	2.13	5.12
	MG	1.22	2.39	0.63	0.32	0.78	6.26	11.60
	T	0.91	2.21	0.72	0.35	0.60	0.82	5.01
	RR	0.89	1.37	0.53	0.31	0.55	0.66	4.42
CBP	IG	3.21	4.52	0.75	0.30	0.48	20.48	29.74
	MG	2.42	4.12	0.49	0.21	0.43	21.79	29.46
	T	3.27	4.15	0.85	0.27	0.97	2.45	11.96
	RR	3.05	2.68	0.79	0.48	0.67	1.63	9.30
HF	IG	0.57	5.94	21.43	11.34	38.27	11.11	88.66
	MG	0.45	4.95	17.43	12.53	34.77	10.16	80.29
	T	1.21	6.24	18.91	8.52	34.31	9.29	78.48
	RR	0.64	5.59	13.83	11.43	38.38	9.09	78.96
CF	IG	0.88	1.90	1.05	0.50	3.94	4.51	12.78
	MG	0.57	1.23	2.94	0.89	4.30	3.34	13.27
	T	0.84	1.41	2.76	0.99	5.30	2.08	13.38
	RR	1.12	1.18	2.76	1.03	5.39	2.82	14.30

Sugar abbreviation: Rha, rhamnose; Ara, arabinose; Xyl, xylose; Man, mannose; Glc, glucose; Gal, galactose

고 판단된다.

Table 2에서는 이와 같은 사실을 더욱 구체적으로 살펴보기 위하여 hemicellulose 유래의 중성당을 성숙단계별로 측정하였다.

그 결과 IAP와 CBP에서는 galactose의 손실이 연화가 일어나는 T에서 비선형성 중성당 손실의 주를 이루고 있으며, HF에서는 mannose가 다소 감소할 따름이고 기타 당류의 연화와 관련된 뚜렷한 변화는 관찰되지 않았다. 이러한 사실은 pectin질 특히 CBP에 galactan의 중합체가 연결되어 있음을 뜻하며 CBP에서 arabinose의 변화가 근소함을 보아 Albersheim<sup>15)</sup>이 보고한 세포벽 model에서 pectin과 arabinogalactan이 결합되어 있다는 것과는 상이하다고 생각되며 또 전보<sup>3)</sup>에서  $\beta$ -galactosidase의 활성이 이시기에 급증하는 것으로도 이 사실이 확인된다고 하겠다.

## 요 약

고추 과실의 연화와 관련된 세포벽 다당류의 변화를 조사하기 위하여 조세포벽으로부터 화학적인 방법에 의하여 IAP(ionically associated

pectin), CBP(covalently bounded pectin), HF(hemicellulosic fraction) 및 CF(cellulosic fraction) 등의 다당류를 분획하여 그 조성변화를 살펴 보았다.

고추 과실 세포벽 구성 IAP와 CBP는 4~29%의 hemicellulose와 0.9~2.1%의 cellulose를 함유하였으며, HF는 8~13%의 pectin과 0.1~1.1%의 cellulose를 함유하였다. 또 IAP와 CBP를 구성하는 polyuronide는 IAP쪽이 높았으나, hemicellulose는 CBP쪽이 높았다.

CF를 제외한 모든 다당류는 turning stage 이후에 감소하였다.

IAP와 CBP의 구성 polyuronide는 IAP에서는 큰 변화를 보이지 않았으나, CBP에서는 증가하였는데, 이것은 CBP와 결합한 HF의 감소에 기인하며, 이 감소의 주된 원인은 구성 galactose의 손실에 의한 것으로 판단되었다.

## 참 고 문 헌

1. Bartley, I.M. and Knee, M.: *Food Chemistry*, **9**, 47 (1982)

2. Huber, D.J.: *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **108**(3), 405 (1983)
3. Kim, S.D., Kang, M.S. and Kim, K.S.: *J. Kor. Soc. Food Nutr.*, **14**(2), 157 (1985)
4. Jarvis, M.C., Hall, M.A., Threlfall, D.R. and Friend, J.: *Planta*, **152**, 93 (1981)
5. Selvendran, R.R.: *Phytochemistry*, **14**, 1011 (1975)
6. Jarvis, M.C.: *Planta*, **154**, 344 (1982)
7. Gross, K.C. and Wallner, S.J.: *Physiol.*, **63**, 117 (1979)
8. Bitter, T. and Muir, H.M.: *Anal. Biochem.*, **4**, 330 (1962)
9. Lehrfeld, J.: *Anal. Biochem.*, **115**, 410 (1981)
10. Spiro, R.G. In "Method in Enzymology" (Neufeld, E.F. and Ginsburg, V. eds): *Academic Press, New York*, **8**, 4 (1966)
11. Knee, M., Sargent, J.A. and Osborne, D.J.: *J. Exp. Bot.*, **28**(103), 377 (1977)
12. Labavitch, J.M.: *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **32**, 385 (1981)
13. Hobson, G.E.: *J. Food Sci.*, **33**, 588 (1968)
14. Jermyn, M.A. and Isherwood, F.A.: *J. Biochem.*, **64**, 123 (1956)
15. Albersheim, P.: *Sci. Am.*, **232**, 80 (1975)