

감과실의 성숙과 추숙중의 세포벽 구성성분의 변화

신승렬 · 김주남* · 김순동** · 김광수

영남대학교 식품영양학과

*영남공업전문대학 식품영양과

**효성여자대학교 식품가공학과

Changes in the Cell Wall Components of Persimmon Fruits during Maturation and Postharvest

Seung-Ryeul Shin, Ju-Nam Kim*, Soon-Dong Kim** and Kwang-Soo Kim

Department of Food and Nutrition, Yeungnam University, Kyungsan

*Department of Food and Nutrition, Yeungnam Junior College of Technology, Taegu

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

Abstract

Cell wall components were decreased during maturation and postharvest of persimmon fruits. Contents of pectin and alkali-soluble hemicellulose were increased during maturity, but those of acid-soluble hemicellulose were decreased. Contents of pectin and alkali-soluble hemicellulose were decrease in soft persimmon, whereas acid-soluble hemicellulose was increased remarkably. Cellulose contents were increased during maturation and this tend was notable in soft persimmon. Contents of cell wall polysaccharides per 100g-fresh weight were decreased. Contents of total pectin and insoluble pectin were increased during maturation but decreased in soft persimmon. Content of water-soluble pectin was increased during maturation and postharvest.

Key words : cell wall polysaccharide, pectic substance, acid and alkali-soluble hemicellulose, cellulose

서 론

감(*Diosryos kaki* L.)과실은 포도당, 과당 등의 당류와 비타민 A, C가 풍부한 알칼리성 식품이며, 장의 수축과 장의 분비액의 분비를 촉진하고 기침을 멎게하는 등의 효능을 가져 전통적으로 애용되고 있는 과실이다⁽¹⁾. 그러나 저장 및 유통과정 중에 쉽게 연화되어 동시에 품질저하를 초래하여 경제적 손실은 물론 소비자에게 신선한 과실을 제공하지 못하는 경우가 많다.

과실의 연화현상은 세포벽 다당류가 이들과 관련된 효소의 작용에 의하여 일어나며⁽²⁻⁴⁾, 특히 middle lamella를 구성하는 pectin질의 분해로 인한 세포벽의 분리현상에 기인한다^(5,6). 과실의 연화는 세포벽 다당류의 구성과 결합 등의 상호작용, 다당류의 크기, branch의 정도와 분포, 수소결합의 정도, pH, Ca²⁺ 등에 영향을

받는다⁽²⁾.

Shewfelt⁽⁷⁾와 Knee⁽⁸⁾는 토마토의 연화중에 불용성 pectic polysaccharide가 감소하는 반면 가용성 polyuronide는 증가함을 관찰하였고, 김^(9,10) 등은 고추의 성숙과 감과실의 연화시에 hemicellulose와 pectin질의 저분자화 현상을, 그리고 Huber⁽¹¹⁾는 토마토의 성숙과 연화중 hemicellulose의 저분자화 현상을 관찰하였다. 또, Bartley와 Knee⁽⁵⁾는 토마토의 성숙과 연화시에, 그리고 Ben-Arie 등⁽⁶⁾은 사과와 배가 성숙함에 따라 middle lamella의 용해현상과 일차세포벽의 분리현상을 관찰하였다.

과실의 연화에 관한 연구는 그 메카니즘을 구명한다는 차원에서 70년대 초부터 구미 각국에서 토마토를 시작으로 하여 사과, 배, 딸기 등에 대하여 세포벽 다당류의 변화, 관련효소의 활성변화 등 연화 중에 일어나는 현상을 중심으로 많은 연구가 행해졌으나 감과실에 대하여는 그 연구가 부족한 실정이다.

본 연구에서는 감과실의 연화 메카니즘의 구명에 대한 일련의 연구로서 성숙과 연화중에 세포벽 다당류와 그 구성당의 변화를 조사하였다.

Corresponding author : Kwang-Soo Kim, Department of Food and Nutrition, Yeungnam University, Daedong, 214-1, Kyungsan 713-749, Korea

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 감과실은 경남 창녕군에서 재배한 부유종 단감(*Diospyros kaki*, L.)으로서 녹숙감(개화 105~110일, mature green persimmon : GP), 변색기의 감(개화 130~135일, turning stage persimmon : TP), 완숙감(개화 155~160일, mature persimmon : MP)과 완숙감을 25°C에서 30일간 연화시킨 연시(softened persimmon : SP)를 실험재료로 사용하였다.

세포벽의 추출 및 세포벽 구성다당류의 분획

세포벽의 추출은 Yamaki 등⁽¹²⁾이 행한 방법에 따라 과피를 제거한 과육질 100g에 80% ethanol 200 ml를 가하여 균질화한 후 80°C에서 10분간 가열하여 효소를 불활성화시킨 다음 3회 세척, 여과하고 동결건조한 것을 알콜 불용성 물질(alcohol insoluble substances : AIS)로 하였다. 이것을 α -amylase(from soybean) 1 mg/ml를 함유하는 50 mM phosphate buffer(pH 6.8)에 현탁시켜 30°C에서 12시간 처리한 후에 다시 protease(from *Streptomyces griseus*) 1 mg/ml를 가하여 α -amylase 처리와 동일한 조건으로 처리한 다음 원심분리하였으며 상정액을 수용성 물질(water soluble material : WSM)로 하였고, 잔사를 세포벽 성분(cell wall fraction : CWF)으로 하였다. 세포벽 성분은 NaClO₂ 150 mg과 빙초산 4방울을 함유하는 증류수 100 ml를 가하여 70°C에서 1시간 저어준 후 원심분리하여 상정액을 lignin 분획으로 하였고, 잔사에 0.05 M EDTA-2Na 10 ml를 가하여 80°C에서 30분간 가열하여 원심분리한 후 얻은 상정액을 pectin질 분획으로 하였다. 남은 잔사는 0.05 M H₂SO₄ 100 ml를 가하여 100°C에서 5시간 끓인 다음 원심분리하였으며 상정액을 산 가용성 hemicellulose로 하였다. 또, 잔사에 4 N KOH를 가하고 N₂ gas 기류하에서 12시간 방치한 후 원심분리하여 얻은 상정액을 알칼리 가용성 hemicellulose로 하였고, 잔사를 cellulose 분획으로 하였다. 각 분획물은 dialysis cellulose tube(M.W. cut off, 6000)에 넣어 증류수로 72시간 투석한 후 동결건조하여 중량법으로 함량을 측정하였다.

Pectin질의 분획 및 정량

Pectin질의 분획은 Ben-Arie 등⁽¹³⁾이 행한 방법에 따라 알콜 불용성 물질(AIS)에 증류수를 가하여 추출한 것을 수용성 pectin(WSP)으로 하였고, 잔사에 0.5% EDTA 용액을 가하여 용해한 것을 versene-soluble pectin(VSP)으로 하였다. 불용성 pectin(IPS)은 남은 잔사를, 그리고 총 pectin(TPS)은 알콜 불용성 물질을 진한 황산으로 가수분해한 것을 각각 시료액으로 하였다.

Pectin의 정량은 carbazole 비색법⁽¹⁴⁾에 따라 각 시료 용액 0.5 ml와 진한 황산 3 ml를 잘 혼합하여 20분간 증탕가열하여 냉각시킨 후 carbazole 시약 100 μ l를 가하여 2시간 정색시킨 다음 530 nm에서 흡광도를 측정하였으며 galacturonic acid의 검량선에 의하여 함량을 산출하였다.

세포벽 구성 hexose, pentose 및 uronic acid의 정량 Ahmed와 Labavitch의 방법⁽¹⁵⁾에 따라 세포벽 성분 5 mg에 진한 황산 2 ml를 가하여 천천히 저어주면서 증류수 0.5 ml를 서서히 가하고 다시 증류수 0.5 ml를 가하여 완전히 용해시킨 다음 전량이 10 ml가 되게 희석한 용액을 hexose, pentose 및 uronic acid의 정량용 시료로 사용하였다.

Hexose의 정량은 anthrone 비색법⁽¹⁶⁾에 따라 시료용액 0.5 ml와 냉 anthrone시약 3 ml를 잘 혼합해서 15분간 끓인 후 냉각하여 620 nm에서 흡광도를 측정하여 glucose 검량선에 의해서 함량을 산출하였다.

Pentose의 정량은 orcinol 비색법⁽¹⁷⁾에 따라 시료용액 1 ml와 orcinol-FeCl₃ 용액 0.1 ml, 진한 연산 1 ml를 잘 혼합한 다음 10분간 증탕가열하여 정색시킨 후 620 nm에서 흡광도를 측정하였으며 arabinose의 검량선에 의하여 함량을 산출하였다.

Uronic acid의 정량은 carbazole 비색법⁽¹⁴⁾에 따라 행하였다.

결과 및 고찰

알콜 불용성 물질, 수용성 물질 및 세포벽 성분의 변화

감과실의 성숙과 추숙중에 세포벽성분의 변화를 조사하기 위하여 알콜 불용성 물질을 얻고 여기에 α -amylase와 protease를 처리한 후 가용성인 수용성 물질과 세포벽성분을 분획하였다(Table 1). 그 결과 알콜 불용성 물질의 함량은 녹숙감(GP)에서는 생체당 4.33%이었고, 완숙감(MP)과 연시(SP)에서는 각각 3.41, 3.30%으로 성숙과 연화함에 따라 감소하였다. 수용성 물질(WSM)의 함량은 변색기 이전의 과실에 비하여 완숙감과 연시에서 각각 1.70과 2.17%으로 높았다. 또, 세포벽 성분의 함량은 녹숙감과 완숙감에서 각각 2.82, 1.68%으로 성숙에 따라 감소하였고, 연시에서는 1.10%로 현저히 감소하였다.

과실이 성숙과 추숙중 알콜 불용성 물질과 세포벽 성분의 함량이 감소한다는 사실은 Ben-Arie 등⁽¹³⁾과 Knee⁽⁸⁾의 연구에서 보고된 바와 같이 세포벽 분해효소인 polygalacturonase, glycosidase 및 cellulase 등의 작용에 의해 세포벽 다당류가 저분자화되고 동시에 수용성 물질이 증가하는 현상과 관련이 있다. Wallner와 Bloom⁽¹⁸⁾

Table 1. Changes in the contents of alcohol-insoluble substance, water-soluble material and cell wall extracted from persimmon during maturation and postharvest (g/100g-fresh weight)

Stages ^{a)}	Alcohol-insoluble substance	Water-soluble material	Cell wall
GP	4.33	1.50	2.82
TP	3.64	1.48	2.16
MP	3.41	1.70	1.68
SP	3.30	2.17	1.10

a) GP : mature green persimmon, TP : turning stage persimmon, MP : mature persimmon, SP : softened persimmon

과 Knee 등⁽¹⁹⁾은 *in vitro*에서 토마토와 사과에 polygalacturonase를 처리한 결과, 세포벽 성분과 난용성 pectin은 감소하면서 가용성 polyuronide는 증가한다고 보고하였다. 따라서 감과실의 연화 중에 알콜 불용성 물질과 세포벽 성분이 감소하면서 수용성 물질이 증가하는 것은 세포벽 분해효소들에 의해서 세포벽이 분해되어 저분자 물질로 전환되기 때문인 것으로 생각되나, 세포의 비대 성장과도 관련이 있을 것으로 생각된다.

세포벽 구성다당류의 변화

Table 2는 세포벽 구성성분을 분획하여 정량한 결과로서 감과실의 성숙과 추숙중에 lignin은 감소하고, pectin질은 157.2~184.1 mg으로 성숙중에는 증가하였으나, 연시에서는 149.1 mg으로 감소하였다. 산 가용성 hemicellulose는 성숙중에는 감소하였으나 연시에서는 크게 증가하였고, 알칼리 가용성 hemicellulose는 성숙중에는 증가한 반면 연시에서는 현저히 감소하였다. Cellulose는 녹숙감과 완숙감에서 각각 290.2, 307.6 mg/g-cell wall 이었고, 연시에서는 389.9 mg/g-cell wall으로서 성숙과 연화에 따라 증가하였다. 그러나 이들의 생체당 함량은 감소하는 경향이였다.

과실의 연화와 직접적으로 관련이 있는 pectin질이 과실이 연화함에 따라 감소한다는 보고⁽⁵⁻⁷⁾는 본 연구의 결과와 유사한 경향이나, 과실이 성숙됨에 따라 총 pectin질의 함량이 감소한다는 보고⁽¹²⁾와는 다소 차이가 있었다. Pectin질은 연화중에 효소적 분해에 의하여 가용성 polyuronide로 전환된다는 보고⁽³⁾와 사과조직에 polygalacturonase의 처리에 의하여 수용성 pectin이 증가한다는 보고⁽¹⁹⁾ 등을 고려할 때 연시에서의 pectin질의 감소는 pectin 분해효소에 의해 난용성 pectin질이 수용성 polyuronide로 전환된 결과라고 생각된다. 과실이 성숙과 연화함에 따라 hemicellulose의 저분자화 현상이 일어난다는 보고^(10,11)가 있는 반면, 성숙중에 hemicellulose은 거의 변화가 없다는 보고⁽⁵⁾도 있다. 본 연구에서 성숙

Table 2. Changes in the contents of cell wall polysaccharides of persimmon during maturation and postharvest (mg/g-cell wall)

Polysaccharides	Stages ^{a)}			
	GP	TP	MP	SP
Lignin	55.2 (155.7) ^{b)}	40.8 (88.1)	21.6 (36.3)	20.6 (22.7)
Pectin	157.2 (433.3)	161.9 (349.6)	184.1 (301.9)	149.1 (165.1)
Acid-soluble hemicellulose	218.2 (615.3)	194.8 (420.8)	181.2 (304.4)	266.4 (293.0)
Alkali-soluble hemicellulose	279.0 (786.9)	298.5 (644.8)	305.5 (501.0)	173.6 (191.0)
Cellulose	290.2 (818.4)	303.9 (656.4)	307.6 (516.8)	389.9 (428.9)

a) Stage symbols are the same as described in Table 1.
b) Values in parenthesis were calculated as mg per 100g of persimmon.

중에는 산 가용성 hemicellulose의 감소와 알칼리 가용성 hemicellulose의 증가현상이 연시에서 역현상을 보인 것은 Huber⁽¹¹⁾의 연구결과와 관련지어 볼 때 고분자 hemicellulose가 분해되어 저분자화되기 때문인 것으로 생각된다. 과실의 세포벽 cellulose의 함량은 성숙과 저장 중에 감소한다는 보고가^(11,12) 있는 반면 많은 연구자들은 cellulose의 함량이 일정하거나 극소량이 감소한다고 보고^(20,21)한 바, 본 연구결과와는 차이가 있었다. 그러나 김 등⁽¹⁰⁾의 감과실의 연화에 관한 연구의 결과와는 일치하는 경향이이며, 이는 타 다당류의 감소에 따른 상대적인 증가로 생각된다.

세포벽 성분의 pentose, hexose 및 uronic acid 함량의 변화

Table 3은 세포벽을 구성하고 있는 pentose, hexose, uronic acid의 함량을 측정한 결과이다. 감과실의 성숙 중에 uronic acid는 다소 증가하는 경향이었고, hexose는 완숙기에 증가하였으나 pentose는 뚜렷한 변화가 없었으며, 연시에서는 pentose, hexose 및 uronic acid는 감소하였다. 그리고 각 구성당의 함량비율은 pentose가 27.4~30.1%, hexose가 45.8~49.2%, uronic acid가 21.9~25.8%로서 과실의 성숙과 연화중에 뚜렷한 변화가 없었다.

Pectin질의 변화

감과실의 성숙과 추숙중 pectin질의 변화를 구체적으로 조사하기 위하여 용해성에 따라 분획하여 정량한 결과(Table 4), 총 pectin질(TPS)은 알콜 불용성 물질의

Table 3. Changes in contents of pentose, hexose and uronic acid of cell wall extracted from persimmon during maturation and postharvest (mg/g-cell wall)

Stages ^{a)}	Pentose	Hexose	Uronic acid
GP	202.8 (29.7) ^{b)}	316.8 (46.4)	163.5 (23.9)
TP	208.7 (30.1)	316.8 (45.8)	166.9 (24.1)
MP	211.3 (27.4)	360.8 (46.8)	198.6 (25.8)
SP	195.8 (29.0)	332.0 (49.2)	147.3 (21.9)

a) Stage symbols are the same as described in Table 1.
b) Values in parenthesis are the ratio of content.

Table 4. Changes in the contents of pectic substances of alcoholinsoluble substances extracted from persimmon during maturation and postharvest

Stages ^{a)}	Pectic substances ^{b)} (mg/100 mg-AIS)			
	WSP	VSP	IPS	TPS
GP	3.95 (171.03) ^{c)}	1.41 (61.05)	5.61 (242.91)	10.96 (474.57)
TP	4.14 (150.70)	1.47 (53.51)	7.12 (256.07)	12.73 (463.37)
MP	4.50 (153.45)	1.61 (54.90)	7.27 (247.91)	13.38 (456.26)
SP	5.52 (182.16)	1.89 (62.37)	4.22 (139.26)	11.63 (383.79)

a) Stage symbols are the same as described in Table 1.
b) WSP ; water-soluble pectin, VSP ; versene-soluble pectin, IPS ; insoluble pectic substance, TPS ; total pectic substance, AIS ; alcohol-insoluble substance
c) Values in parenthesis were calculated as mg per 100g of persimmon fruits.

11~13% 정도 차지하였고, 감과실이 성숙함에 따라 다소 증가하였으나 연시에서는 감소하는 경향이였다. 불용성 pectin(IPS)은 녹숙기에 5.61 mg/100 mg-AIS에서 변색기에서는 7.12 mg/100 mg-AIS로 증가하였고, 완숙기에는 뚜렷한 변화가 없었으나 연시에서는 4.22 mg/100 mg-AIS로 현저히 감소하였다. Versene-soluble pectin(VSP)은 성숙중에는 뚜렷한 변화가 없었으나 연시에서 다소 증가하였고, 수용성 pectin(WSP)은 성숙과 추숙중에 증가하였으며 연시에서 더욱 현저하였다. 그리고 생체 100g당 총 pectin의 변화는 성숙중에는 뚜렷하지 않았으나 연시에서는 수용성 pectin은 증가하는 반면 불용성 pectin과 총 pectin은 현저히 감소하였다.

과실의 연화 중에 middle lamella의 구성성분인 pectin질이 효소의 작용에 의하여 분해되어 저분자화 됨으로써 난용성이 가용화되며^(7,11), 과실조직에 polygalacturonase를 처리하였을 때 수용성 pectin이 증가하고⁽¹⁹⁾, 토마토의 연화시 polygalacturonase의 활성증가와 수용성 pectin의 증가 및 경도가 감소한다는 보고^(2,3)가 있다. 그러므로 연시에서의 수용성 pectin질의 증가와 불용성 및 총 pectin질의 감소현상은 pectin 분해효소의 작용으로 난용성 pectin이 가용성 polyuronide로 전환되기 때문인 것으로 사료된다.

요 약

감과실의 성숙과 추숙중 세포벽의 함량은 감소하는 경향이었고, 성숙중에는 pectin질과 알칼리 가용성 hemicellulose의 함량은 증가하는 반면 산 가용성 hemicellulose와 lignin은 감소하였다. 그러나 연시에서는 pectin질과 알칼리 가용성 hemicellulose의 감소와 산가용성 hemicellulose의 증가가 뚜렷하였다. 그리고 성숙과 추숙중에 cellulose의 함량은 증가하였으며, 생체당 세포벽 다당류의 함량은 감소하였다. 총 pectin질과 불용성 pectin질의 함량은 성숙중에는 증가하였으나 연시에서는 현저히 감소하였으며, 반면에 수용성 pectin질의 함량은 성숙과 추숙중에 증가하였다.

감사의 말

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. 유태종 : 식품카르테. 박명사, p. 129(1976)
2. Huber, D.J. : The role of cell wall hydrolases in fruit softening. *Horticultural Reviews*, 5, 169(1983)
3. Hobson, G.E. : Enzymes and texture changes during ripening. In *Recent Advances in the Biochemistry of Fruit and Vegetables*, Friend, J. and Rhodes, M.J.C. (ed), Academic Press, London, p. 123(1981)
4. Ahmed, A.E.R. and Labavitch, J.M. : Cell wall metabolism in ripening fruit. I. Cell wall changes in the ripening "Bartlett" pears. *Plant Physiol.*, 65, 1009(1980)
5. Bartley, I.M. and Knee, M. : The chemistry of textural changes in fruit during storage. *Food Chem.*, 9, 47 (1982)
6. Ben-Arie, R., Kisler, N. and Frenkel, C. : Ultrastruc-

- tural changes in the cell wall of ripening apple and pear fruits. *Plant Physiol.*, **64**, 197(1979)
7. Shewfelt, A.L. : Changes and variation in the pectic constitution of ripening peaches as related to product firmness. *J. Food Sci.*, **30**, 573(1965)
 8. Knee, M. : Metabolism of polymethylgalacturonate in apple fruit cortical tissue during ripening. *Phytochemistry*, **17**, 1261(1978)
 9. 김순동, 윤수홍, 강명수, 박남숙 : 고추과실 세포벽 다당류의 연화에 따른 변화. *한국영양식량학회지*, **15**(2), 165(1986)
 10. 김순동, 박남숙, 강명수 : 감의 연화에 관련된 세포벽 다당류의 변화. *한국식품과학회지*, **18**(2), 153(1986)
 11. Huber, D.J. : Polyuronide degradation and hemicellulose modification in ripening tomato fruit. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **108**(3), 405(1983)
 12. Yamaki, S., Machida, Y. and Kakiuchi, N. : Changes in cell wall polysaccharides and monosaccharides during development and ripening of Japanese fruit. *Plant & Cell Physiol.*, **20**(2), 311(1979)
 13. Ben-Arie, R., Sonogo L. and Frenke, C. : Metabolism of the pectic substances in ripening pears. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **104**(4), 500(1979)
 14. Bitter, T. and Muir, H.M. : A modified uronic acid carbazole reaction. *Anal. Biochem.*, **4**, 330(1962)
 15. Ahmed, E.R.A. and Labavitch, J.M. : A simplified method for accurate determination of cell wall uronide content. *J. Food Biochem.*, **1**, 361(1977)
 16. Spiro, R.G. : Analysis of sugars found in glycoprotein. In *Methods in Enzymology*. Newfeld, E.F. and Ginsburg, V.(ed), Academic Press, New York, Vol. 8, p. 4 (1966)
 17. 윤익섭, 이중화, 오대섭, 홍영석 : 정성정량 식품분석. 형설출판사, p. 182(1982)
 18. Wallner, S.J. and Bloom, H.L. : Characteristics of tomato cell wall degradation *in vitro*. Implication for the study of fruit softening enzymes. *Plant Physiol.*, **60**, 207(1977)
 19. Knee, M., Fielding, A.H., Archer, S.A. and Laborda, F. : Enzymic analysis of cell wall structure in apple fruit cortical tissue. *Phytochemistry*, **14**, 2213(1975)
 20. Bartley, I.M. : Changes in the glucans of ripening apples. *Phytochemistry*, **15**, 625(1975)
 21. Sexton, R. and Roberts, J.A. : Cell biology of abscisic acid. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **33**, 133(1983)

(1990년 6월 19일 접수)