

감압저장중 도마도 과실의 저장물질과 Peroxidase 활성의 변화

손태화 · 최종욱 · 천성호

경북대학교 농과대학 식품가공학과

Changes of Reserved Substance and the Peroxidase Activity in Tomato Fruits during the Storage of Sub-atmosphere Pressure

Sohn, Tae Hwa · Choi, Jong Uck · Cheon, Seong Ho

Dept. of Food Science and Technology. Coll. of Agric., Kyungpook Natl. Univ.

Summary

The experiments were conducted to investigate the activity changes of peroxidase, existence of isoenzyme and the changes of reserved substances in tomato under subatmospheric pressure storage condition.

The results obtained were as follows :

1. Soluble fraction showed the highest peroxidase activity and followed by cell wall fraction, mitochondria fraction and ribosome fraction in that order.
2. Peroxidase activity was decreased during the ripening and senescence period in tomato. Especially, peroxidase activity in tomato was higher at a room temperature (25 °C) than at a low temperature (15 °C). The decreasing inclination was similar in both treatment. The peroxidase activity was higher in 380 Torr. than in 570 Torr.
3. At least, two isoperoxidases (Soluble or solubilized) were identified from different extraction procedures. Three of four isoenzymes were recognized from a vertical slab of polyacrylamide gel electrophoresis.
4. The changes of components in tomato under SAP were generally affected by temperature and pressure. Especially, quality of tomato stored at a low temperature (15 °C) and SAP (380 Torr.) was best during storage.

서 론

호흡계에 관여하는 효소인 peroxidase 는 동식물

계에 존재하는 hemin계 효소로서 H₂O₂의 존재하에 hydrogen donor인 페놀성 물질들과, cytochrome c, pyrogallol, hydroquinone등을 산화시킨다. 그러나 생

체내에서의 작용에 대하여는 아직 확실치않으나 여러가지 중요한 생리작용에 관여한다는 보고^{4, 7, 8, 11}가 있다.

그러나 현재까지 감압저장에 따른 도마도 저장물질과 peroxidase의 활성변화에 관해서는 보고된 바 없다.

본 연구는, 도마도 과실의 감압저장에 관한 연구의 일환으로 도마도 과실의 추숙노화 현상을 효소학적인 면에서 관찰하고자, peroxidase의 활성변화, 동위효소의 유무, 그리고 저장물질의 변화를 조사하였기에 보고하는 바이다.

실험재료 및 방법

1. 실험재료

● 공시재료

대구시 불로동 소재 농원에서 노지재배한 도마도 품종 강력미수(強力美穗)를 1981년 7월 및 1982년 6월에 숙도가 녹색기(mature green stage)일때 수확하여 외관이 건전하고, 중량은 150g 정도인 과실을 선별하여 공시재료로 사용하였다.

● 실험구분 및 장치

손 등(孫等)¹⁵의 감압조절장치를 사용하여 저장용기내의 온도 및 압력을 <표 1>과 같이 구분하여 실시하였다.

Table 1. Classification of experiment.

TMTS	Pressure (Torr.)	Temp (°C)	Note
Normal atmospheric pressure	760	25	NAP-R
		15	NAP-L
		25	SAP-1R
Sub-atmospheric pressure	570	15	SAP-1L
		25	SAP-2R
		15	SAP-2L
	380		

2. 실험방법

● 호흡량의 측정

호흡량은 大久保¹³의 방법에 준하였다.

● 경도의 측정

경도는 Universal Hardness Meter로 측정하였다.

● 엽록소 함량의 측정

엽록소 함량의 측정에 있어서 시료조제 및 측정 방법은 A. O. A. C. 법에 따라 실시하여 전체 엽록소 함량으로 나타내었다

● 환원당의 정량

환원당은 과육부 10g을 마쇄하여 추출 여과한 후 정용한 가검액을 Nelson-Somogyi¹² 법으로 정량하였다.

● 전분의 정량

전분의 정량은 Hassid와 Abraham의 방법²에 따라 실시하였다.

● 산의 정량

산은 상법에 따라 중화적정법으로 측정한 뒤 구연산으로 환산하여 나타내었다.

● Peroxidase의 세포내 분포조사

도마도 과육부를 동량의 0.5M-sucrose 용액과 같이 마쇄한 후 거즈로 여과하고 여액을 1,000g에서 15분 원심분리시켜 얻어진 침전물과 잔사를 합하여 cell wall fraction으로 하였다. 상등액을 다시 10,000g에서 15분 원심분리시켜 생긴 침전물을 mitochondria fraction으로 하고, 다시 상등액을 75,000g에서 60분 원심분리시켜서 생성된 침전부분을 ribosome fraction으로 하고, 상등액을 soluble fraction으로 하였다.

불용성 세포벽, 미토콘드리아, 리보솜의 각 구분은 pH8.0의 250mM의 인산 완충액으로 2회 효소 추출을 행하고, 투석한 후 얻어진 부분을 가용화 효소로 하였다.

● 효소활성의 측정

Mudd의 방법⁶에 의해서 다음과 같이 실시하였다. 즉, pyrogallol을 기질로 하여 이것이 산화되어 생긴 purpurogallin의 착색정도를 파장 430nm에서 Shimadzu UV-200 type의 분광광도계를 사용하여 측정했다.

반응액의 조성은 0.01M-pyrogallol 0.5ml, 0.15%-H₂O₂ 0.1ml, 효소액 0.1~0.5ml, 여기에 전용량이 3ml가 되도록 0.1M-phosphate buffer (pH6.5) 1.9~2.3ml를 가하여, 1cm각의 cuvette중에서 반응을 30℃로 행하였다.

30초 동안 preincubation후에 10초마다 430nm의 O. D.치의 변화를 1분간 측정하여 이 사이의 O. D.값의 증가에 의해 초속도를 구하여 효소활성을 구하였다. 기질 1mg을 1분간에 변화시키는 효소량을 1 Unit로 하였다.

측정한 O. D.치와의 관계는 purpurogallin의 몰 흡광계수, 2.47cm⁻¹ μM⁻¹(colowick, 1955)로 부터 u-

nts/ml = O. D. /min. /ml × 10³ / 2.47의 식에 의하여 효소활성을 구하였다.

● Slab electrophoresis

Ornsteine⁶⁾ 및 Davis¹¹⁾의 방법에 따라 7.5% polyacrylamide gel(pH8)과 tris-HCl buffer(pH8.3)를 사용하여 250V에서 전기영동을 실시 하였다.

Peroxidase의 band는 Ku⁹⁾ 등의 방법에 따라서 제조한 0.3% H₂O₂ 및 0.05% benzidine을 함유한 acetate buffer(pH5.2)속에 gel을 침적시켜서 발색시킨 후 alcohol에 침적시켜 효소반응을 중지시킨 후 발색한 band를 관찰하였다.

결과 및 고찰

저장중인 도마도의 호흡량의 변화를 조사한 결과는 Fig. 1과 같다. 저장초기에 호흡량은 31.9mg/kg /

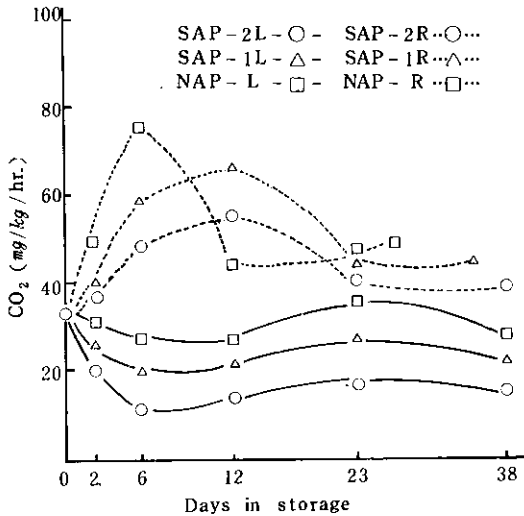


Fig. 1. Changes of CO₂ production during the storage of tomato fruits.

hr이었으나 저장기간이 경과함에 따라 상온구는 급격히 증가한 후, 저장중기에는 감소현상을 보였다. 저온구는 초기에 감소하다가 중기에는 증가하는 것으로 나타났다. 이러한 변화는 climacteric rise 가 저온과 감압처리로 인하여 약화되는 것으로 보인다. 그리고, 상온760Torr. 구는 저장 6일경에 climacteric maximum이 나타날때 비해 380Torr. 구는 저장 25일경에 climacteric maximum이 나타나는 것으로 보아 저온 감압처리구가 상온 상압처리구보다 약 20일정도 climacteric maximum의 지연효과가 나타남을 알 수 있었으며 저장중 처리 구분간의 호흡량의

차이는 감압과 저온의 복합적인 요인에서 기인한다고 생각되었다. 이것은 감압이 호흡의 억제에 효과적이라는 보고와 일치하는 결과였다.

저장중인 도마도의 경도의 변화를 조사한 결과는 Fig. 2와 같다. 경도는 저장초기에 2.89kg/cm² 이던

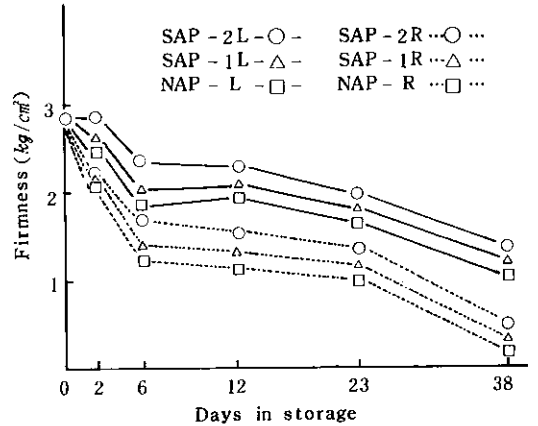


Fig. 2. Changes of firmness during the storage of tomato fruits.

것이 저장중 전반적으로 급격한 감소 경향을 나타내었으며, 저온구가 상온구보다 감소가 적었고, 감압구가 상압구보다 감소가 적었으며, 그중에서도 저온380Torr. 구가 경도의 감소가 가장 적었다.

저장중 엽록소의 변화는 Fig. 3에서 보는 바와 같이 저장초기의 엽록소 함량은 4.6mg%이던 것이 저장 4일이 경과함에 따라 전반적으로 급격히 감소하는 경향을 보였으며, 그 감소경향은 상온구가 저온구보다 더 커서 상온760Torr. 구와 상온 570Torr. 구는 저장 23일경에 거의 손실된 반면, 저온380Torr. 구는 감소폭이 가장 적어서 저장 38일경에도 1.7mg%정도 잔존하는 것으로 나타났다.

저장온도별로 볼 때 상온구가 저온구에 비해 엽록소의 소실이 심한 것은 엽록소 분해효소가 25℃에서 가장 큰 활성을 보이기 때문이라고 생각되어진다.

저장중 당함량의 변화를 조사한 결과는 Fig. 4와 같다.

당함량은 저장 초기에는 2.6%이던 것이 저장시일이 경과함에 따라 전반적으로 약간 증가하는 경향이였으며, 증가량은 저온구가 상온구에 비해 적고, 저온구 중에서도 저온380Torr. 구는 저장 38일경까지도 거의 변화가 없었다.

저장중 전분 함량의 변화를 조사한 결과는 Fig 5

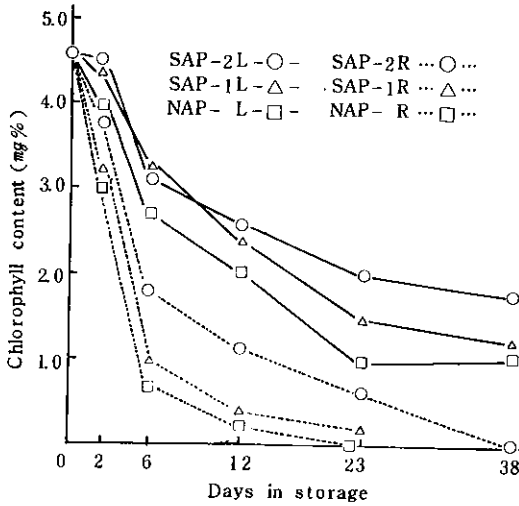


Fig. 3. Changes of chlorophyll content during the storage of tomato fruits.

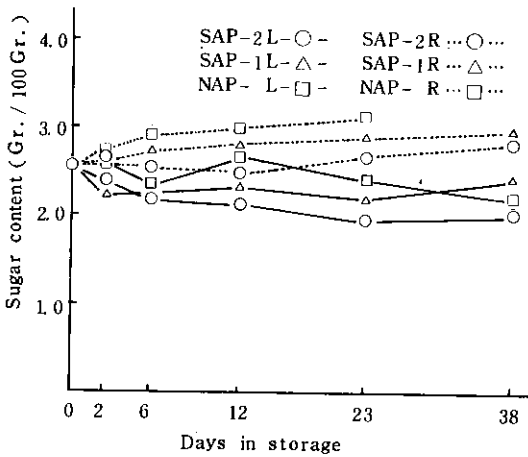


Fig. 4. Changes of sugar content during the storage of tomato fruits.

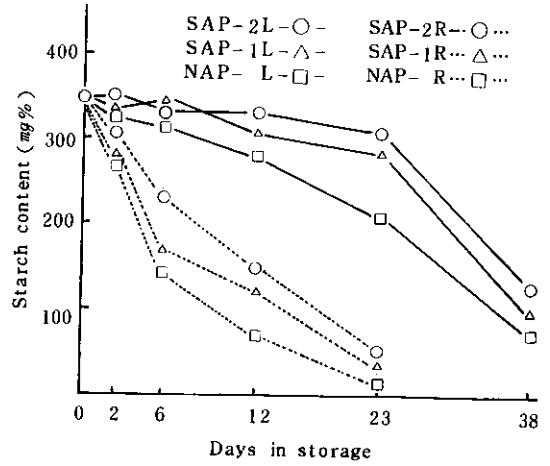


Fig. 5. Changes of starch content during the storage of tomato fruits.

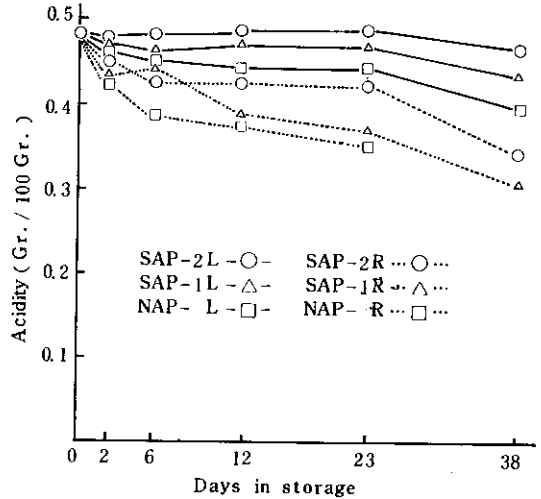


Fig. 6. Changes of acidity during the storage of tomato fruits.

와 같다.

전분함량은 저장초기에는 340mg%였으며, 저장시일이 경과함에 따라 전반적으로 급격히 감소하는 경향을 보였으나, 그 감소량은 상온구가 저온구보다 훨씬 커서 상온구는 저장 23일경에 거의 소실된 반면, 저온구는 저장말기에도 상당량의 당이 잔존하는 것으로 나타났다.

저장중 산의 변화를 조사한 결과는 Fig. 6과 같다.

산은 개화 후 성숙함에 따라 증가하여 녹숙기에 최대치를 나타낸다고 알려져 있는데 Fig. 6에서 보는 바와 같이 저장초기에는 0.47%이던 것이 저장시일이 경과함에 따라, 전반적으로 다소 감소하는

경향이였으며, 감소량은 저온구가 상온구에 비하여 적고, 감압구의 감소량이 상압구에 비해서 적었다. 특히 저온380Torr. 구는 저장 말기까지 거의 변화가 없었다.

Fig. 7은 저장 전반에 걸쳐 peroxidase 활성 분포(C : 8.3~27.0%, M : 1.8~4.1%, R : 0.21~2.45% S : 53.6~82.0%)를 평균한 것이다. Fig. 7에서 나타난 바와 같이 활성은 가용성구분에 가장 많이 존재하고, 그 다음으로 세포벽구분, 그리고, 미토콘드리아구분과 리보조음구분의 순이었다. 여기서 S와 C구분이 전체 활성의 약 95%이상을 차지하고 있었으며, M과R구분에도 100g의 과육에 대해 약 1,700

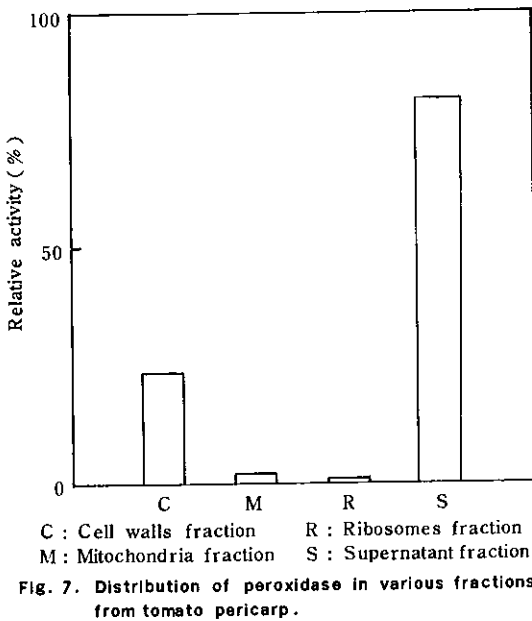


Fig. 7. Distribution of peroxidase in various fractions from tomato pericarp.

~16,000Units의 효소가 있는 것을 알수 있었다. 각 구분에 함유된 효소활성의 비율은 저장기일이 경과함에 따라 전반적으로 많은 차이를 보였으며, 도마도의 속도에 따른 영향을 받고 있었다.

저장중 세포벽구분의 peroxidase활성의 변화를 조사한 결과는 Fig. 8과 같다.

세포벽구분의 peroxidase 활성은 저장초기에는 100

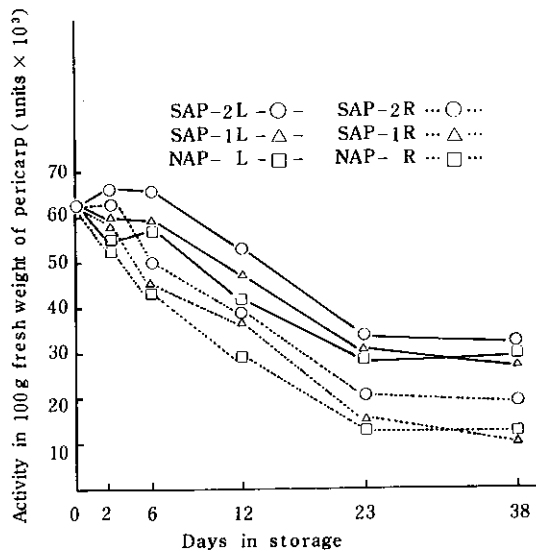


Fig. 8. Changes of peroxidase activities in cell walls fraction during the storage of tomato fruits.

의 과육에 대해 약 64,000Units이던 것이 저장시일이 경과함에 따라 전반적으로 감소하는 경향을 나타내었다.

그 중 상온구는 저온구에 비해 감소가 더 컸으며 감압구는 상압구에 비해 감소가 적었다.

저장중 가용성구분의 peroxidase활성의 변화를 조사한 결과는 Fig. 9와 같다.

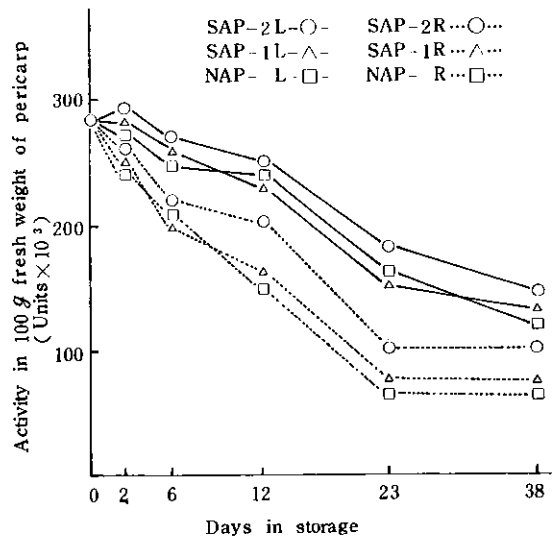


Fig. 9. Changes of peroxidase activities in soluble fraction during the storage of tomato fruits.

가용성구분의 peroxidase 활성은 저장초기에는 100g의 과육에 대해 약 280,000Units로서 전반적으로 세포벽구분과 같은 경향이였다.

이상으로 보아 앞서의 세포벽구분의 peroxidase 활성의 변화에서와 마찬가지로 가용성구분에서도 감압저장이 peroxidase의 활성유지에 더 효과적이라는 것을 알 수 있었다.

Zyogram pattern에 의해 본 peroxidase의 변화는 Fig. 10과 같다.

Band A는 가장 강하게 착색하는 부분으로서 세포벽구분과 가용성구분에서 보여지며 미토콘드리아 및 리보솜구분에서는 보이지 않았다.

Band B는 세포벽구분에서는 나타나지 않았다. 미토콘드리아 및 리보솜구분에서는 Band B만이 보였다.

Fig. 14는 저장중 상온380Torr. 구의 zyogram pattern의 변화를 나타낸 것으로 다른 저장구도 이와 유사하였다.

가용화 시킨 peroxidase는 Band A만 나타났으며,

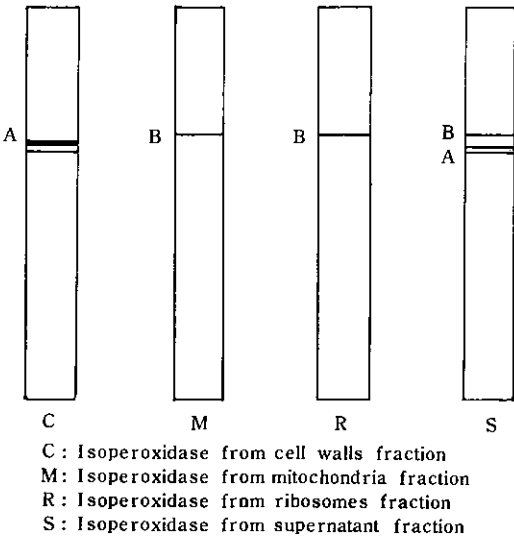


Fig. 10. Isoperoxidase patterns of polyacrylamide gel from various fractions isolated from tomato pericarp.

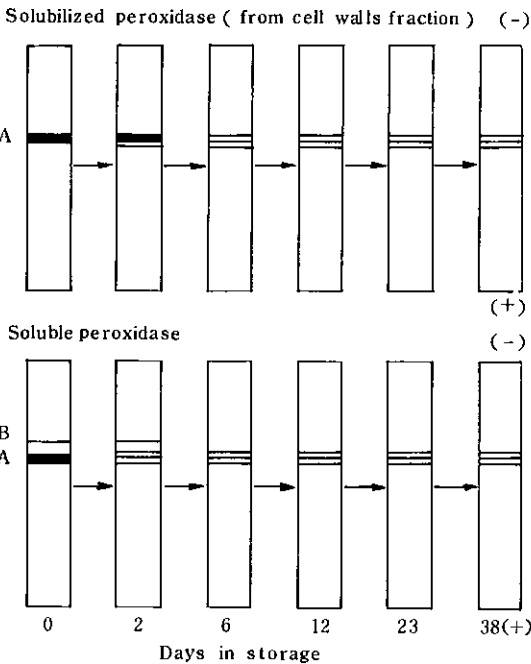


Fig. 11. Isoperoxidase patterns of polyacrylamide gel from different ripening stages tomato fruits at 25°C.

저장시일이 경과함에 따라 활성이 약해지는 경향이 있고, 3개의 Band로 분리되었다.

가용성 peroxidase는 Band B가 저장초기에 있었으나 저장 6일경에 소실되었으며, Band A는 가용화시킨 peroxidase의 경우와 같은 경향이었으며, Band는 저장시일이 경과할수록 전반적으로 약간 모여드는 경향이였다.

요 약

도마도 과실의 감압저장에 관한 연구의 일환으로 도마도 과실의 추숙, 노화 현상을 효소적인 면에서 관찰하고자, 퍼옥시다제의 활성 변화, 동위효소의 유무, 그리고, 이에 따른 과실내의 저장물질의 변화를 조사한 결과는 다음과 같다.

도마도 퍼옥시다제의 활성은 가용성구분, 세포벽구분, 미토콘드리아구분, 리보솜구분의 순으로 강하게 나타났으며, 그 중 가용성과 세포벽구분의 활성이 95% 이상을 차지하고 있었다.

도마도의 추숙, 노화에 따라 퍼옥시다제의 활성은 감소하였으며, 상온저장(25°C)에 비해, 저온저장(15°C)이 전반적으로 활성이 높았으며, 그 감소 경향은 유사하였다.

상압에 비해 감압구의 활성이 높았으며, 감압구 중에서도 380Torr. 구가 570Torr. 구에 비해 높은 활성을 보였다.

저장중 가용성(soluble), 가용화성(Solubilized), 퍼옥시다제의 전기영동 패턴(electrophoresis pattern)의 변화를 관찰한 바 3-4종의 동위효소(isoenzyme)가 관찰되었으며 저장중 전기영동상의 변화가 인정되었다.

감압에 따른 저장중 일반성분의 변화는, 저온구와 상온구에 있어서, 온도에 의한 영향이 전반적으로 많이 나타나서 상온구 보다 저온구가 저장효과가 좋은 것으로 나타났고, 압력에 의한 영향도 다소간 나타내어 570Torr. 구보다 380Torr. 구의 저장효과가 좋았으며, 이상의 두가지 사실을 종합해 볼 때, 저온 380Torr. 구가 저장효과가 가장 좋은 것으로 나타났다.

가용성 퍼옥시다제는 밴드B가 저장초기에 있었으나 저장 6일 경에 소실되었으며 밴드A는 가용화시킨 퍼옥시다제의 경우와 거의 같은 경향이었으며, 밴드는 저장시일이 경과할수록 전반적으로 약간 모여드는 경향이였다.

引用文獻

1. Davis, B. J. 1964. Disc electrophoresis II. Ann. N. Y. Acad. Sci. 121 : 404 - 427.
2. Hassid, W. Z. and Abraham S. 1957. Chemical procedures for analysis of polysaccharide. Methods in enzymology III. 38 - 40. Academic Press. N. Y..
3. John, R. W. 1972. Principles of enzymology for the food sciences. Marcel dekker Inc. New York. 2 : 592 - 600.
4. Kawashima and Uritani. 1965. Some properties of peroxidase produced in sweet potato infected by the black rot fungus. Plant & Cell Physiol. 6 : 247.
5. Ku, H. S., S. F. Yang and H. K. Pratt. 1970. Ethylene production and peroxidase activity during tomato fruits ripening. Plant & Cell Physiol. 11 : 241 - 246.
6. Leonard, O. 1964. Disc electrophoresis I. Ann. N. Y. Acad. Sci. 121 : 321 - 349.
7. Lieberman, M. and A. T. Kunish. 1965. Ethylene production from methionine. Biochem. J. 97 : 449.
8. Mudd, J. B., B. G. Johnson, R. H. Burris and K. P. Bucholtz. 1959. Oxidation of indoleacetic acid by quackgrass. rhizomes. Plant Physiol. 34 : 144.
9. Norman, A. A. and A. R. Gordon. 1968. Studies on the characteristics, distribution, and Ultrastructural localization of tomato cell wall peroxidases. J. Cell Biol. 39 : 5.
10. Van Fleet, D. S. 1959. Analysis of the histochemical localization of peroxidase related to the differentiation of plant tissues. Can. J. Bot. 37 : 449 - 458.
11. 糖質實驗法. 1967. 共立出版(東京), 13 - 14.
12. 大久保増太郎. 1968. 青果物の鮮度保持に関する研究(第五報). 日園學誌. 37(3): 72 - 76.
13. 孫泰華. 1975. 減壓에 의한 사과貯藏中の生理化學的變化에 관한研究. 嶺南大學校 大學院 博士學位 論文.