

토마토 과실의 성숙중 세포벽 성분 및 조직의 변화

문광덕 · 신승렬*[†]

경북대학교 식품공학과
*경산대학교 식품공학과

Changes in the Cell Wall Components and Cell Structure of Tomato Fruits during Maturation

Kwang-Deok Moon and Seung-Ryeul Shin*[†]

Dept. of Food Science and Technology, Kyungpook National University, Taegu 702-701, Korea

*Dept. of Food Science, Kyungsan University, Kyungsan 712-715, Korea

Abstract

This study was conducted to understand the characteristics of fruit softening during maturation which causes considerable losses in quality of horticultural products during storage and marketing process after harvest. The changes in the cell wall contents and structure of tomatoes during maturation were characterized. The hardness of fruit was decreased rapidly between mature and pink stage tomatoes. Contents of cell wall and insoluble pectin was decreased during maturation, but soluble pectin was increased. Microscopic observations of cell wall of tomato fruits during maturation showed the degradation of middle lamella in pink stage tomato fruits. Partial degradation of cell wall and cell separation were observed in red stage tomato fruits.

Key words : tomato, softening, pectin, cell wall

서 론

과실의 성숙동안에 chlorophyll은 감소하는 반면 carotenoid는 증가하고, 세포벽 구성성분의 변화, 유리당과 유기산의 축적, 향기성분의 생성, 호흡량의 증가 등의 변화와 동시에 연화효소의 활성이 증가하고 세포벽 구성 성분이 분해되어 과실의 물성변화를 초래하고 연화 현상이 일어난다(1). 과실의 연화에 관여하는 효소는 polygalacturonase, glycosidase, pectinmethylesterase, cellulase 등이 있고 이들 효소는 과실의 성숙중에 활성이 증가하고 세포벽성분을 분해하여 연화를 촉진한다(1,2). 특히 polygalacturonase는 세포벽의 middle lamella의 구성 성분인 펙틴질을 분해하여 저분자의 polyuronides를 유리시킴으로써 middle lamella가 붕괴된다. Glycosidases 중에 β -galactosidase는 펙틴의 측쇄 결합인 arabinogalactan이나 galactan을 분해하여 연화현상을 촉진하나 pectinmethylesterase와 cellulase는 연화에 많은 영향을 주지 않는 것으로 알려져 있다(1,2).

일반적으로 식물세포벽은 얇은 primary wall과 비교적 두꺼운 secondary wall, 그리고 세포사이를 단단하게 결합시키고 있는 middle lamella의 세부분으로 구성되어 있다(3). 과실의 세포벽 구성성분은 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스, 펙틴, 리그닌 및 세포벽 단백질로 구성되어 있다(3,4). 과실의 연화중에 세포벽 구성성분의 변화는 펙틴과 헤미셀룰로오스가 저분자화되어 유리되거나 셀룰로오스는 약간 감소하거나 변화가 일어나지 않는다(5). 펙틴과 헤미셀룰로오스에 측쇄결합하고 있는 arabinose와 galactose는 연화과정 중에 세포벽 분해효소의 작용을 받아서 함량이 감소하고 유리 arabinose와 galactose의 함량은 증가한다(6,7).

토마토의 성숙과 저장 중에 세포벽 분해효소인 polygalacturonase와 β -galactosidase의 활성이 증가하고(8,9) 세포벽 구성성분의 함량이 감소하며 특히 불용성 펙틴은 감소하고 가용성 펙틴은 증가한다는 보고(10)가 있으나 세포벽 구성 성분과 조직의 변화에 대한 연구는 거의 이루어져 있지 않다.

[†]To whom all correspondence should be addressed

본 연구는 토마토의 성숙 중에 경도 및 펙틴질의 변화와 세포벽 구조의 현미경적 관찰을 통하여 성숙중 연화에 따른 세포벽의 구성 성분인 펙틴의 변화와 조직 변화의 상호관계를 구명하고자 한다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 토마토는 대구시 동구 지저동 소재 농원에서 노지 재배한 토마토 품종 “풍농(豊農)”을 미숙기(unmature fruit, UF, 개화 후 38일), 수확 적기(mature fruit, MF, 개화 후 45일), 식용 적기(pink fruit, PF, 개화 후 50일), 그리고 과숙기(red fruit, RF, 개화 후 55일)의 것을 취하여 공시재료로 사용하였다.

경도 측정

토마토 과실의 경도는 texturometer를 이용하여 다음과 같이 측정하였다. 즉, 시료는 임의적으로 15개를 취하여 각각 puncture test를 행하였으며, 경도측정기는 J.J. Instrument model T5K를 사용하였고, cross-head speed는 200mm/min, plunger size는 ϕ 6.4mm, clearance는 1cm로 하였다.

세포벽 추출 및 정량

세포벽 추출은 Yamaki 등(11)이 행한 방법에 준하였다. 즉, 과피를 제거한 시료 100g에 80% ethanol 200 ml를 가하여 균질화한 다음 80°C에서 10분간 가열처리하여 효소를 불활성화시킨 후 80% ethanol로 3회 여과 세척하여 동결건조한 것을 알콜 불용성 물질로 하였다. 일정량의 알콜 불용성 물질을 50mM phosphate buffer에 현탁시킨 다음 amylase와 protease를 가하여 30°C에서 24시간 처리하여 당질과 단백질을 제거하고 남은 잔사를 chloroform-methanol(1 : 1, v/v)혼합용액으로 세척 여과하여 지질성분을 제거한 후에 동결건조하여 중량법으로 세포벽 함량을 구하였다.

펙틴질의 정량

펙틴물질의 분석은 Ben-Arie 등(12)이 사용한 방법으로 분석하였다. 즉, 시료 일정량을 최종 농도 80%가 되게 ethanol를 가하여 과쇄하고 펙틴 분해효소의 불활성화를 위해 80°C에서 20분간 가열한 후 원심분리하여 잔사를 얻고 다시 잔사에 methanol과 chloroform

혼합액으로 반복 세척하여 지용성 물질을 제거한 후 동결건조하여 얻은 것을 알콜 불용성 물질(AIS)로 하였다. AIS 0.5g을 증류수 100ml를 가하여 80°C에서 한 시간 추출한 것을 수용성 펙틴(WSP)으로 하였고, 잔사를 0.5% EDTA(pH 6.0) 100ml를 가하여 추출한 것을 EDTA 가용성 펙틴(VSP)으로 하였다. 불용성 펙틴(ISP)은 남은 잔사를 진한 황산으로 분해한 것으로 하였다. 각 펙틴질의 정량은 carbazole 비색법(13)에 의하여 각 시료액 0.5ml와 진한 황산 3ml를 잘 혼합한 다음 20분간 증탕가열하고 냉각시킨 후 carbazole 시약 100 μ l를 가해 2시간 정색반응시킨 다음 530nm에서 흡광도를 측정하여 galacturonic acid 검량선에 의해 함량을 산출하였다.

세포벽의 현미경적 관찰

현미경적 관찰용 시료의 제조는 과피로부터 0.3~0.7cm 사이의 과육을 일정 크기로 절제하여 2.5% glutaraldehyde와 1% OsO₄로 이중 고정시킨 후 알코올로 단계적으로 탈수하였다(14). 이 시료를 isoamyl acetate로 치환시키고 CO₂를 이용한 임계점 건조기로 건조시킨 후 백금으로 증착시킨 것을 주사전자현미경(SEM)으로 관찰하였다. 투과전자현미경(TEM)용 시료제조는 이중 고정한 것을 ethanol과 propylene oxide로 탈수한 후 epon 수지로 포매시켜 block을 제조하여 ultramicrotome으로 초박절편을 만들고 uranyl acetate와 lead acetate로 염색한 후 투과전자현미경(Hitachi H-600, Japan)으로 관찰하였다.

결과 및 고찰

경도의 변화

성숙중 토마토 과실의 경도 변화를 조사하기 위해 puncture test를 행한 결과는 Table 1과 같다. 경도는 미숙기에는 46.70 \pm 4.20N이었는데 적숙기 이후부터 급격히 감소하여 식용 적기와 과숙기에서 각각 15.18 \pm 3.55, 7.87 \pm 2.58N이었다.

과실의 경도는 성숙 초기에는 증가하나 녹숙기 이후에 감소하기 시작하여 완숙기 이후에 급격히 감소한다는 보고(15)가 있으며, 이러한 과실의 경도 감소는 성숙 중에 생성된 세포벽 분해효소의 작용에 의해 세포벽 성분이 분해되어 물성의 변화를 초래하는 일련의 연화현상에 의한 것으로 사료된다.

Table 1. Changes in hardness of tomato fruits during ripening

Mature stage	Hardness(Newton)
UF	46.70 ± 4.20
MF	37.80 ± 6.48
PF	15.18 ± 3.55
RF	7.87 ± 2.58

UF : Unmatured fruits, MF : Mature fruits, PF : Pink fruits, RF : Red fruits

세포벽함량의 변화

토마토의 성숙중 세포벽 함량의 변화를 조사한 결과는 Table 2와 같다. 미숙기 토마토의 세포벽 함량은 1.21g/100g-fr.wt.이었고 식용적기인 개화 50일에는 0.96g/100g-fr.wt.로 감소하여 과숙기에는 0.87g/100g-fr.wt.이었다.

과실의 세포벽 구성 성분은 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스, 펙틴, 세포벽단백질 등으로 구성되어 있고 (3,4), 성숙과 연화중에 생성된 세포벽 분해효소의 작용에 의해 세포벽 성분이 분해되어 가용성 다당류로 유리됨으로써 세포벽 함량은 감소하게 된다(2,6). 특히 펙틴 분해효소인 polygalacturonase에 의하여 세포벽 중층을 구성하고 있는 펙틴질을 분해하여 저분자의 polyuronides로 유리시킴으로써 펙틴의 함량도 감소하게 된다. 또한 헤미셀룰로오스도 성숙과 연화중에 분해되어 함량이 감소함으로써 세포벽 성분의 함량이 감소하는 것으로 보고(16)되고 있다. 그러나 셀룰로오스는 성숙과 연화중에 과실의 종류에 따라 감소하거나 변화가 없고 과실의 연화에도 별로 영향을 주지 않는 것으로 보고되고 있다(1).

따라서 본 연구에서 세포벽 함량의 감소는 성숙중에 펙틴과 헤미셀룰로오스가 분해되어 감소됨으로써 일어나는 것으로 사료된다.

펙틴질의 변화

토마토 과실의 성숙중 펙틴질의 함량 변화를 측정 한 결과는 Table 3과 같다. 토마토 성숙 중에 가용성 펙틴

Table 2. Changes in cell wall contents of tomato fruits during ripening

Mature stage	Cell wall contents (g/100g-fr.wt.)
UF	1.21
MF	1.15
PF	0.96
RF	0.87

Symbols are the same as in the Table 1

Table 3. Changes in pectic substance contents of tomato fruits during ripening

Mature stage ¹⁾	Contents of pectic substances(g/100g-fr.wt.)			
	WSP	VSP	ISP	Total pectin
UF	0.031	0.121	0.278	0.430
MF	0.038	0.140	0.202	0.380
PF	0.068	0.157	0.096	0.321
RF	0.081	0.165	0.049	0.295

¹⁾Symbols are the same as in the Table 1

WSP : water-soluble pectins, VSP : versene-soluble pectins, ISP : insoluble pectin fraction

과 EDTA 가용성 펙틴의 함량은 성숙 초기에는 서서히 증가하였고 식용 적기 이후에 급격히 증가하였으나 불용성 펙틴과 총 펙틴의 함량은 성숙 중에 감소하였고 과숙기에는 미숙기에 비해 각각 82.4, 31.4%가 감소하였다. 가용성 펙틴의 증가와 불용성 펙틴의 감소는 수확적기 이후에 많은 변화가 일어났다.

Ben-Arie 등(17)은 세포벽의 middle lamella를 구성하고 있는 펙틴질은 세포벽 분해효소가 과실의 성숙과 연화 중에 증가한다고 하였는데 이는 펙틴질을 분해하여 저분자인 가용성 polyuronide로 유리된다고 보고하였고, Shewfelt 등(18)은 난용성 펙틴질의 함량은 감소하고 수용성 펙틴질은 증가한다고 하였으며 Knee (19)는 *in vitro*에서 사과조직에 polygalacturonase를 처리하였을 때 연화시와 유사하게 수용성 펙틴질이 증가한다고 보고하였다.

따라서 토마토 성숙 중에 난용성 펙틴질은 감소하고 수용성 펙틴질이 증가하는 것은 세포벽 분해효소의 작용에 의해 불용성 펙틴질이 분해되어 저분자의 polyuronides으로 전환되는 일련의 연화현상이며 또한 식용적기 이후에 펙틴의 변화가 급격히 일어나는 것으로 보아 토마토의 연화는 이 시기에 시작되는 것으로 사료된다.

세포벽의 현미경적 관찰

Fig. 1은 주사전자 현미경을 이용하여 50배로 관찰한 결과로 성숙과 연화가 진행됨에 따라 세포배열이 심하게 흐트러짐을 볼 수 있으며, 세포벽의 분해현상도 관찰되었다.

투과형 전자현미경으로 성숙중 토마토의 세포벽을 관찰한 결과는 Fig. 2와 같다. 미숙기의 토마토에서는 middle lamella와 세포내 기관들이 잘 관찰되었으나 성숙이 진행됨에 따라 액포의 발달과 소액포 형성 및 middle lamella의 분해현상이 나타났으며 세포기관들도 분해되어 관찰할 수 없었다. 과숙기의 토마토에서

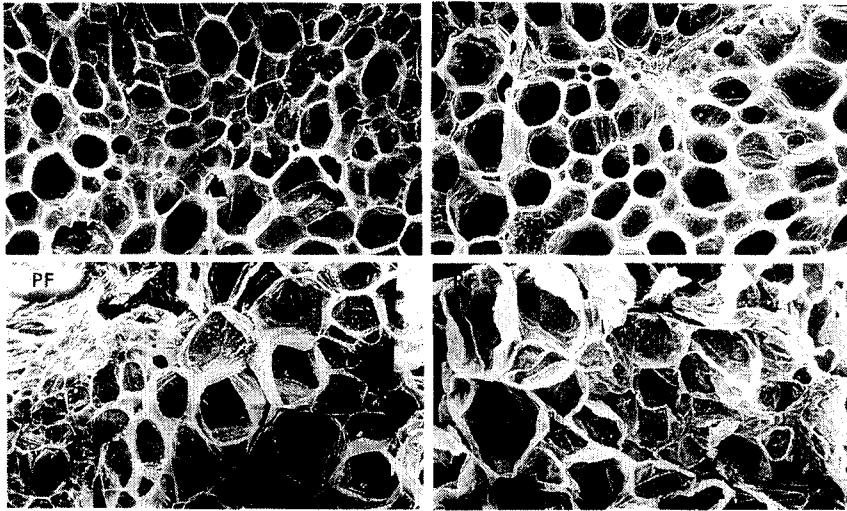


Fig. 1. Scanning electron microscopic photographs of tomato fruit($\times 50$).
Symbols are the same as in the Table 1.

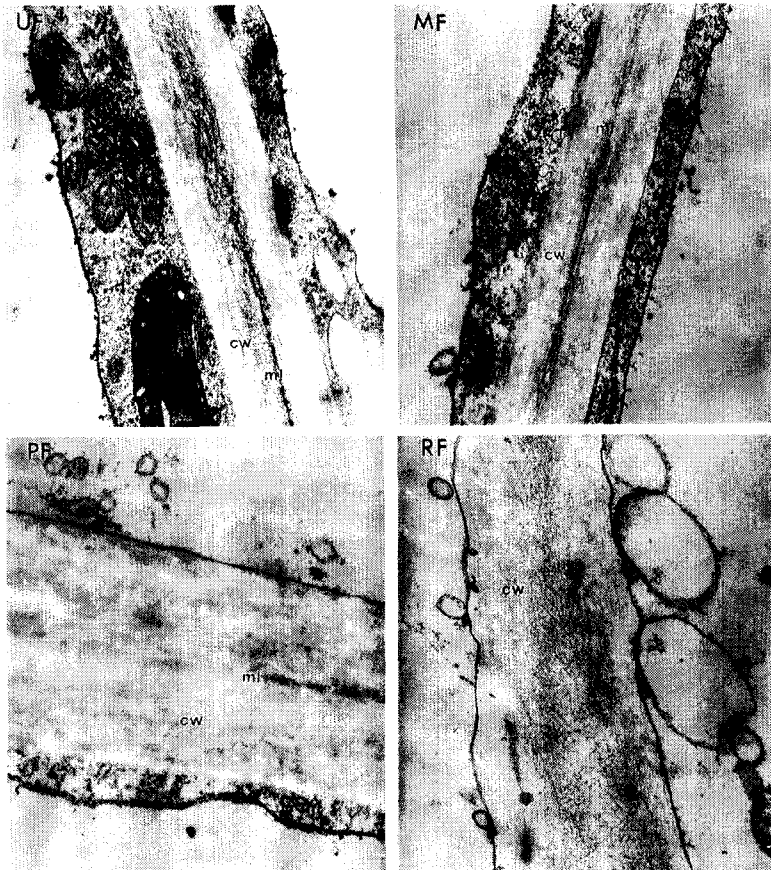


Fig. 2. Transmission electron microscopic photographs of cell wall of tomato fruits($\times 20,000$).
Symbols are the same as in the Table 1.
CW : Cell wall, ml : Middle lamella

는 middle lamella의 가용화와 함께 세포벽의 부분적인 분해가 관찰되었다.

성숙과 연화 중에 세포벽의 분해는 세포벽 분해효소들이 생합성되어 활성이 증가하여 이들 효소에 의해 일어나고 특히 세포벽 middle lamella의 분해는 polygalacturonase에 의해 펙틴의 주 구성 성분인 polyrhamnogalacturonan을 분해하고, β -galactosidase에 의해 galactan과 arabinogalactan이 분해됨으로써 일어난다는 보고(2,16)가 있다. Ben-Arie 등(20)은 사과와 배의 성숙중에 middle lamella가 붕괴되었으며, *in vitro*에서 polygalacturonase를 처리하였을 때 성숙중과 동일하게 middle lamella가 붕괴되었고 cellulase를 처리하였을 때는 원형질에서 세포벽이 분해된다고 보고하였다.

따라서 토마토의 성숙과 연화중에 세포벽의 middle lamella와 세포벽의 분해는 polygalacturonase, cellulase 등의 세포벽분해효소의 작용에 의해서 일어나는 것으로 사료된다.

요 약

토마토 과실의 연화현상의 주 원인으로 판단되는 세포벽의 형태적 변화를 조사하기 위하여 성숙 단계별로 취하여 과실의 경도, 세포벽 구성 성분의 변화 및 세포벽의 변화를 조사하였다. 과육의 경도는 적숙기 이후부터 급격한 감소를 나타내었다. 세포벽 함량은 성숙 중에 감소하였고 가용성 펙틴의 증가와 불용성 펙틴의 감소는 적숙기와 식용 적기 사이에서 가장 현저했으며, 총 펙틴의 함량은 다소 감소하는 경향을 나타내었다. 성숙에 따른 토마토 과육의 세포 및 세포벽의 형태적 변화를 현미경으로 관찰한 결과, 수확기까지의 토마토에서는 middle lamella와 세포내 기관들이 잘 관찰되었으나, 연화가 진행됨에 따라 식용 적기의 토마토에는 middle lamella를 관찰할 수 없었으며 과숙기에서는 middle lamella의 가용화와 함께 세포벽의 부분적인 분해와 세포분리현상이 관찰되었다.

문 헌

- 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. (eds.), Academic Press, London, p.123(1981)
- Grierson, D., Tucker, A. and Robertson, N. G. : The molecular biology of ripening. In "Recent advances in the biochemistry of fruit and vegetable" Friend, J. and Rhodes, M. J. C. (eds.), Academic Press, London, p.149(1983)
- Albersheim, P. : The primary cell wall. In "Plant biochemistry" Bonner, J. and Varner, J. E.(eds.), Academic Press, New York, p.225(1975)
- Keegstra, K., Talmadge, K. W., Bauer, W. D. and Albersheim, P. : A model of the wall of suspension-cultured sycamore cells based on the interconnection of the macromolecular components. *Plant Physiol.*, **51**, 188(1973)
- Huber, D. J. : The role of cell wall hydrolases in fruit softening. *Horticultural Reviews*, **5**, 169(1983)
- Gross, K. C. and Wallner, S. J. : Degradation of cell wall polysaccharides during tomato fruit ripening. *Plant Physiol.*, **63**, 117(1979)
- 신승렬, 김순동, 송준희, 김광수 : 감과실의 성숙과 추숙 중의 세포벽 다당류의 비섭유성 다당류의 변화. *한국식품과학회지*, **22**, 743(1990)
- Tucker, G. A. and Grerson, D. : Synthesis of polygalacturonase during tomato fruit ripening. *Planta*, **155**, 64(1982)
- Pressey, R. : β -Galactosidase in ripening tomatoes. *Plant Physiol.*, **71**, 132(1983)
- Gross, K. C. and Wallner, S. J. : Degradation of cell wall polysaccharide during tomato fruit ripening. *Plant Physiol.*, **63**, 117(1979)
- Yamaki, S., Yutaka, M. and Kakiuki, N. : Changes in cell wall polysaccharides and monosaccharides during development and ripening Japanese pear fruit. *Plant Cell Physiol.*, **20**, 311(1979)
- Ben-Arie, R., Sonogo, L. and Frenkel, C. : Metabolism of the pectic substances in ripening pears. *J. Am. Soc. Hort. Sci.*, **104**, 500(1979)
- Bitter, T. and Muir, H. M. : A modified uronic acid carbazole reaction. *Anal. Biochem.*, **4**, 330(1962)
- Luft, J. H. : Improvements in epoxy resin embedding methods. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **9**, 409(1961)
- Hall, C. B. : Firmness of tomato fruit tissue according to cultivar and ripeness. *J. Am. Soc. Hort. Sci.*, **112**, 663(1987)
- Knee, M. and Bartley, I. M. : Composition and metabolism of cell wall polysaccharides in ripening fruits. In "Recent advances in the biochemistry of fruit and vegetable" Friend, J. and Rhodes, M. J. C.(eds.), Academic Press, London, p.133(1980)
- Ben-Arie, R., Sonogo, L. and Frenkel, C. : Metabolism of the pectic substances in ripening pears. *J. Am. Soc. Hort. Sci.*, **104**, 500(1979)
- Shewfelt, A. L., Payter, V. A. and Jen, J. J. : Textural changes and molecular characteristics of pectin constituent in ripening peaches. *J. Food Sci.*, **36**, 573(1971)
- 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)
- Ben-Arie, R., Jisler, N. and Frenkel, C. : Ultrastructural changes in the cell wall of ripening apple and pear fruits. *Plant Physiol.*, **64**, 197(1979)