

에틸렌 처리에 의한 감 과일 세포벽成分的 변화

강인규, 장경호*, 변재균
영남대학교 원예학과, *중부대학교 원예학과

Changes in the Components of Cell Wall in Persimmon Fruits with Ethylene Treatment

In-Kyu Kang, Kyung-Ho Chang* and Jae-Kyun Byun
Department of Horticulture, Yeungnam University
*Department of Horticulture, Joongbu University

Abstract

This study was carried out to investigate changes in the flesh firmness, evolution of ethylene, cell wall components, and degradation and solubilization of polyuronide(PU) and polysaccharide(PS) in green(GP) and mature persimmon(MP) fruits according to treating time of ethylene($50\mu\text{l} \cdot \text{L}^{-1}$). When ethylene was treated in GP and MP, flesh firmness rapidly decreased and it was decreased more GP than MP. When ethylene were treated for 12 hours in GP, production of ethylene began after 3 days. The amount of ethylene product was maximum $16,000 \mu\text{l} \cdot \text{L}^{-1}$ at 24 hours of ethylene treatment. However, ethylene was not producted until 7 days after 24 hours ethylene treatment at MP. The content of pectic substances decreased in the distilled- water, 0.05M Na_2CO_3 , 4M and 8M KOH-soluble fractions during softening according to increasing time of ethylene treatment. Arabinose and galactose were the major non-cellulosic neutral sugars in the 0.05M CDTA and 0.05M Na_2CO_3 -soluble pectic fractions. Glucose, galactose and xylose were the major non-cellulosic neutral sugars in the 4M KOH- soluble hemicellulosic fraction. High molecular of PU and PS were degraded and solubilized in the distilled-water, 0.05M CDTA, 0.05M Na_2CO_3 and 4M KOH-soluble fractions during time of ethylene treatment.

Key words ; Persimmon(*Diospyros kaki*) fruit, cell wall, ethylene, non-cellulosic neutral sugars, pectic substances.

서론

과실의 연화는 세포벽 구성성분의 변화에 기인하며, 그 중에서도 펙틴질의 가용화 및 분해와 특히 밀접한 관련이 있는 것으로 알려지고 있다. 과실이 성숙 단계에 접어들어 따라 세포벽 구성성분들은 세포벽분해효소들에 의하여 분해되거나 비효소적 기작에 의하여 붕괴되어 연화과정에 들어가게 된다. 펙틴질은 주사슬인 rhamnogalacturonan과 결사슬인 중성당 polymer 들로서 구성되어 있으며, 펙틴질의 분해는 주사슬인

galacturonan이나 결사슬인 중성당 polymer들이 효소적으로 또는 비효소적으로 절단됨으로서 일어난다(1). 최근에는 많은 과실에서 과육 세포벽으로부터 galactosyl 잔기가 감소하면서 세포내에는 free galactose가 증가함이 밝혀지게 되었다(2,3). 이 같은 현상은 galactosyl기를 가진 세포벽 고분자들이 β -galactosidase에 의하여 가수분해된 결과 세포벽의 분해가 일어나는 것으로 추정하게 되었다(4,5). 그리고 과실의 연화에는 효소에 의한 펙틴의 분해보다도 펙틴의 가용화 정도가 더 중요하다는 보고도 있다(6,7). 그러므로 과실 연화기작의 해명을 위해서는 펙틴의 가용화 정도와 관련이 깊은 pectic polymer들의 분자량이 과실의 성숙과 연화의 진행에 따라 어떻게 달라지는지에 관한 연구가 필요하

Corresponding author : Jae-Kyun Byun, Department of Horticulture, Yeungnam University, Kyongsan 712-749, Korea

다. 그러나 지금까지 많은 연구들은 과실의 성숙과 연화과정에서 이미 가용화된 펙틴의 구성성분과 함량에 큰 관심을 가져왔으며, 펙틴의 구조적 변화와 밀접한 관련이 있는 pectic polymer들의 크기의 변화에 관한 연구는 많지 않다(1,8,9).

그동안 필자들은 감 과실의 연화특성에 관한 연구를 수행하여 왔다(10,11,12). 그 결과 감 과실은 수확할 무렵까지는 경도, 세포벽 구성성분, 세포벽 구성 다당류의 크기, 세포벽 분해효소의 활성 등에 큰 변화가 없었고, 연화기에 들어가면서부터 이들의 현저한 변화가 일어남을 확인한 바 있다. 그런데 감 과실은 비클라이막테릭 호흡형을 갖는 과실로 알려져 수확기까지는 에틸렌 생성이 아주 적으며, 연화후기에 가서야 에틸렌이 약간 발생하는 특성을 갖고 있음에도 불구하고 외부에서 극미량의 에틸렌을 공급할 경우에는 과실의 발육단계와 관계없이 급격한 연화가 일어난다(12). 그러므로 본 연구에서는 에틸렌 처리에 따른 감 과실의 세포벽성분의 변화를 조사하므로써 에틸렌 처리 과실의 연화현상과 자연성숙 과정에서 일어나는 과실연화 현상간에 어떤 차이가 있는지를 밝히고자 하였다.

재료 및 방법

재료

감(*Diospyros kaki cv Fuyu*) 과실은 경북 경산군의 감 재배 농가에서 단감 '부유' 품종의 성목으로부터 녹색기(9월 19일)와 성숙기(11월 5일)의 과실을 각각 채취하였다.

에틸렌 처리 및 발생량 조사

변색기와 성숙기의 과실을 재료로 하여 이들을 밀폐용기속에 넣고 $50 \mu\text{l} \cdot \text{L}^{-1}$ 의 농도가 되게 에틸렌을 주입하여 25°C에서 0, 12, 24, 48 및 96시간 동안 보관한 후 끄집어 내었다. 그 후 주입된 에틸렌 gas를 제거한 후, 다시 과실을 밀폐용기속에 넣고 1시간이 경과된 후 용기로부터 1 ml의 gas를 뽑아서 Hewlett Packard 5890 Model gas chromatograph (Column: Packard(Porapak Q), 80/100 mesh), Injection temp.: 80°C, Column temp.: 120°C, Detector temp.: 150°C, Carrier gas: N₂)에 주입하여 에틸렌 발생량을 측정하였으며, 조사기간은 7일간 1일 간격으로 측정하였다. 에틸렌 발생량을 측정후 세포벽성분의 변화를 조사하기 위하여 과피를 제거하여 -80°C 냉동고에 동결시켰다.

경도 측정

에틸렌 처리 후 각 시간별 과실의 경도는 Effegi 경도계(Model FT 011, Italy, 직경 8 mm plunger)를 사용하여 과실 적도부위의 과피를 제거한 후 측정하였다.

세포벽 물질의 추출 및 분획

세포벽 물질의 추출은 Redgwell 등(13)이 행한 방법을 이용하였다. 즉, 감 과실로부터 과피를 제거한 과육 200g을 사용하여 세포벽 물질을 추출하였으며, 세포벽 물질의 분획은 세포벽 물질 1g으로부터 펙틴 및 헤미셀룰로오스를 증류수, 0.05 M CDTA, 0.05M Na₂CO₃, 4M과 8M KOH 추출용매를 사용하여 분획하였다. 각각의 분획들은 증류수로 투석하고 동결건조하여 분석시료로 하였다.

세포벽 물질들의 가용화와 분해

펙틴 및 헤미셀룰로오스의 분해와 가용화정도를 조사하기 위하여 펙틴분획인 증류수, CDTA, Na₂CO₃ 가용성 분획과 헤미셀룰로오스 분획인 4M KOH 가용성 분획의 동결건조된 시료를 각각 20mg씩 사용하여 Sepharose CL-2B(2.3×99cm) column에 주입하여 분획하였다. 이때 column은 0.125M NaCl을 함유한 0.05M sodium acetate buffer(pH 6.0)로 평형시켰으며, 유속은 18 ml/h로 하여 각 fraction 당 3ml씩 분획하였다. 각 fraction-용액에 존재하는 polyuronide는 carbazole 비색법(14)으로, 그리고 polysaccharide는 phenol-sulfuric acid 방법(15)으로 측정하였다. Gel 여과에 따른 다당류의 분자량은 표준 dextran (MW 2,000, 515, 73, 40 및 10 kD)과 비교하여 측정하였다.

펙틴질의 정량

펙틴물질의 분획은 Ben-Arie 등(16)의 방법에 준하였고, 펙틴의 정량은 carbazole 비색법(14)으로 실시하고, 함량은 표준물질인 galacturonic acid를 사용, 검량선에 의해 산출하였다.

세포벽 비섬유성 중성당의 조성 및 정량

각 세포벽 다당류의 비섬유성 중성당의 정량은 Blakeney 등(17)의 방법, 즉 각 세포벽 성분 10 mg에 0.5 mg/ml myo-inositol을 함유한 2N TFA(trifluoroacetic acid)용액 1 ml를 가하여 121°C에 1시간 autoclave하여 불용성 잔사를 제거한 다음 50°C, N₂ gas기류하에서 건조시킨 후, 1 N NH₄OH 0.1 ml와 NaBH₄ 용액 1 ml(2g NaBH₄, 2g/100 ml dimethyl sulfoxide)로 40°C에서 90분간 shaking incubation하여 환원시켰다. 그리고 glacial acetic acid 0.1 ml, 1-methylimidazole 0.2 ml를 가

한 다음 acetic anhydride 2 ml를 가하여 잘 혼합한 후 실온에서 10분간 acetylation을 시켜 alditol acetate 유도체를 만들고, 여기에 증류수 5 ml와 methylene chloride 1 ml를 가하여 잘 혼합하여 수 시간 방치한 다음 하층액을 중성당 분석시료로 하였다. 중성당은 Hewlett Packard 5890 Model gas chromatograph (Column: capillary column SP-2380(30m×0.32mm), Injection temp.: 270°C, Column temp.: 220°C, Detector temp.: 270°C, Carrier gas: He 24.5 ml/min.)로 측정하였으며, 표준당류에 해당하는 alditol acetate의 chromatogram과 비교한 후 내부 표준물질(Internal standard)인 myo-inositol과의 비율에 의해 각각의 함량을 구하였다.

결과 및 고찰

경도와 에틸렌 생성의 변화

녹숙기와 성숙기의 감 과실에 에틸렌을 처리하였을 때 두 시기 모두에서 에틸렌 처리시간이 경과될수록 과실의 경도는 급격히 감소하였다. 그리고 녹숙기의 감이 성숙기의 감보다 경도가 훨씬 높음에도 불구하고 에틸렌 처리에 의한 경도감소의 정도는 성숙기의 감보다 녹숙기의 감에서 더 큰 경향을 보여 주었다(Table 1).

한편 이들 과실에 에틸렌을 처리함에 따라 과실내 에틸렌 생성량이 어떻게 달라지는지를 조사하였다. 녹숙기의 감에서는 12시간 에틸렌 처리후 3일째부터 에틸렌이 발생하기 시작하였으며, 24시간의 에틸렌 처리에서는 에틸렌 발생량이 처리후 3일째에 최대 16,000 $\mu\text{l} \cdot \text{L}^{-1}$ 에 달하였다. 그러나 성숙기의 감에서

는 24시간 동안 에틸렌을 처리하여도 처리후 7일까지 과실의 에틸렌 발생이 전혀 없었으며, 48시간 동안 에틸렌을 처리하여야 겨우 에틸렌 발생이 시작되었다. 그리고 에틸렌 발생량도 녹숙기 감에 비하여 훨씬 적었다(Table 2).

Table 1. Changes in the flesh firmness of green and mature persimmon fruits during ethylene treatment

Times of treatment (hours)	Flesh firmness(Kg)			
	Green stage		Mature stage	
	-Ethylene	+Ethylene	-Ethylene	+Ethylene
0	VF	VF ¹⁾	5.50 ³⁾	5.50 ^c
12	VF	4.00 ^c	5.45 ^b	5.00 ^c
24	VF	2.99 ^b	5.20 ^a	2.55 ^b
48	VF	0.71 ^a	5.15 ^a	1.02 ^a
96	VF	ND ²⁾	5.00 ^a	ND

¹⁾VF, very firm

²⁾ND, not detected

³⁾Mean separation in columns by Duncan's multiple range test, 5% level.

이같은 결과들로 미루어 볼 때 외부에서의 에틸렌 자극에 의한 감 과실의 에틸렌 생성능력은 성숙기보다 녹숙기가 훨씬 큰 것으로 생각되었다. 강 등(12)은 감 과실의 자연연화과정중에서 연화초기인 성숙기에는 에틸렌 생성이 극히 적었던 사실이나, 본 조사에서 12시간 또는 24시간 에틸렌을 처리한 감 과실에서는 과실의 연화가 상당히 진행되었음에도 불구하고 과실로부터 에틸렌 생성은 거의 없었던 결과로 미루어 볼 때 감 과실의 연화는 내생 에틸렌의 발생 없이도 충분히 일어날 수 있는 특성을 갖고 있는 것으로 생각되었다.

Table 2. Changes in the ethylene contents of green and mature persimmon fruits according to ethylene treatment

Ripening Stage	Time of ethylene treatment (hours)	Ethylene($\mu\text{l} \cdot \text{L}^{-1}$)						
		Days after ethylene treatment						
		1	2	3	4	5	6	7
Green Persimmon	0	ND ²⁾	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	12	ND	ND	2100 ^a	5922 ^b	6277 ^b	5689 ^b	6017 ^c
	24	1318 ^{b1)}	3454 ^a	15920 ^c	7284 ^c	6464 ^b	5684 ^b	4854 ^b
	48	1280 ^b	14880 ^b	5140 ^b	6903 ^c	5938 ^b	5634 ^b	5867 ^c
	96	5050 ^a	3829 ^a	4649 ^b	4752 ^a	2250 ^a	1993 ^a	931 ^a
Mature Persimmon	0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	12	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	24	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	48	2794 ^b	300 ^b	164 ^b	189 ^b	129 ^b	375 ^b	388 ^b
	96	737 ^a	418 ^a	371 ^a	610 ^a	1074 ^a	962 ^a	813 ^a

¹⁾Mean separation in columns by Duncan's multiple range test, 5% level.

²⁾ND, Non-detected

펙틴 물질의 변화

녹숙기와 성숙기 과실을 일정시간 별로 에틸렌을 처리한 다음 이들 과실로부터 추출한 세포벽 물질 1g 을 사용하여 증류수, CDTA, Na₂CO₃(펙틴 물질), 4M과 8M KOH 가용성 물질(헤미셀룰로오스 물질) 및 불용성 물질(셀룰로오스 물질)로 분획한 후 이들의 uronic acid 함량을 정량한 결과는 Table 3과 같다. 녹숙기 과실 세포벽물질의 펙틴함량을 보면 CDTA 가용성 분획에서는 에틸렌 처리시간의 경과에 따른 펙틴함량의 변화는 적었다. 그러나 H₂O와 Na₂CO₃ 분획에서는 에틸렌 처리 시간이 경과할 수록 펙틴함량이 감소하였다. 성숙기의 과실에서는 녹숙기 과실의 경우와는 달리 24시간 에틸렌 처리 과실에서는 세포벽의 펙틴분획들이 급격히 증가하였고, 48시간 이상 에틸렌을 처리한 과실에서는 24시간 에틸렌 처리 과실에 비하여 펙틴함량이 감소하였다. 헤미셀룰로오스 분획에서는 녹숙기와 성숙기 과실 모두에서 에틸렌 처리 시간이 경과함에 따라 펙틴함량이 급격히 감소하는 경향을 보였다.

Table 3. Changes in the contents of uronic acid of cell wall extracted from green and mature persimmon fruits during ethylene treatment

Ripening Stage	Time of treatment (hours)	Uronic acid (mg/g cell wall)					
		WSM ¹⁾	CSM	SSM	ASM-1	ASM-2	ISM
Green	0	73.72	18.30	69.08	45.41	40.02	98.84
	24	40.12	44.94	32.33	18.91	11.31	101.84
	Persimmon	48	17.75	22.55	37.33	11.32	9.58
96		15.04	23.42	22.97	6.02	5.14	67.86
Mature	0	12.19	35.59	62.19	77.17	10.55	104.14
	24	46.96	117.32	177.95	38.03	3.25	101.24
	Persimmon	48	27.77	76.75	205.83	2.08	0.03
96		20.20	50.73	148.76	5.59	0.32	128.22

¹⁾WSM: water-soluble materials, CSM: CDTA-soluble materials, SSM: Na₂CO₃-soluble materials, ASM-1: 4M KOH-soluble materials, ASM-2: 8M KOH-soluble materials, ISM: Insoluble materials.

녹숙기 과실의 세포벽에서 에틸렌 처리 시간이 증가될 수록 펙틴 및 헤미셀룰로오스 함량이 현저히 감소된 것은 에틸렌 처리에 의하여 감 과실이 연화될 때 펙틴 구성물질과 헤미셀룰로오스 구성물질들이 가용화되어 세포벽으로부터 떨어져 나왔기 때문인 것으로 추정된다. 그리고 이같은 현상은 토마토(18, 19), 키위(13, 20), 감(10, 21, 22, 23) 및 배(24)에서도 이미 보고된 바 있다. 한편 성숙기 과실에서는 24시간 에틸렌 처리 과실에서 세포벽 펙틴의 함량이 증가하였

는데, 이같은 현상은 아마도 녹숙기 과실에서는 에틸렌이 외부에서 주어진더라도 펙틴합성이 이루어지지 않았지만 성숙기 과실에서는 에틸렌이 외부에서 공급될 경우 세포벽에서 펙틴의 합성이 활발히 이루어지기 때문인 것으로 추정되었다.

세포벽 비섬유성 중성당의 변화

녹숙기와 성숙기의 감 과실을 일정 시간별로 에틸렌을 처리하고, 이들 과실로부터 PAW 가용성물질을 추출한 다음 PAW에 불용성인 세포벽물질을 CDTA, Na₂CO₃, 및 4M KOH 추출용매에 가용성인 물질과 불용성인 물질을 분획하여 각각의 비섬유성 중성당함량을 조사하였다. 그 결과, CDTA 가용성 분획중에 존재하는 중성당의 주 구성당은 arabinose와 galactose로 이루어져 있었다. 녹숙기 과실의 중성당 함량을 보면 24시간 에틸렌 처리 과실에서는 에틸렌 처리 전 과실에서보다 그 함량이 증가하였으며 48시간 및 96시간 에틸렌 처리 과실에서는 무처리 과실보다 함량이 크게 감소하였다. 그러나 성숙기에서는 에틸렌 처리시간이 경과할 수록 중성당 함량은 감소하는 경향이 있었다 (Table 4). Na₂CO₃ 가용성물질 중에 존재하는 중성당의 주 구성당은 arabinose, rhamnose 및 galactose이며 그들의 총 함량은 CDTA 가용성물질 중에 존재하는 중성당보다 그 양이 약 2~10배 정도 많았다. 이 분획에서도 녹숙과와 성숙과에서 24시간 에틸렌 처리 후에는 세포벽 구성당 함량이 대부분 높아졌다. 그리고 48시간 에틸렌 처리 후에는 이들 세포벽 구성당 함량들이 다시 낮아지는 경향을 보였다(Table 5).

Table 4. Changes in non-cellulosic neutral sugar contents of CDTA-soluble material(CSM) extracted from cell wall materials of green and mature persimmon fruits according to ethylene treatment

Ripening Stage	Times of treatment (hours)	Non-cellulosic neutral sugar (mg/g CSM) ¹⁾						
		Total	Rha	Ara	Gal	Glc	Xyl	Man
Green	0	2.32	0.36	1.07	0.63	0.18	0.14	ND ²⁾
	24	2.87	0.55	1.23	0.85	0.18	0.06	ND
	Persimmon	48	0.88	0.18	0.39	0.24	0.04	0.03
96		0.76	0.17	0.29	0.23	0.04	0.03	ND
Mature	0	2.13	0.44	0.90	0.59	0.14	0.06	ND
	24	0.84	0.20	0.32	0.21	0.05	0.06	ND
	Persimmon	48	0.54	0.02	0.26	0.18	0.04	0.04
96		0.40	0.08	0.16	0.10	0.02	0.04	ND

¹⁾Rha, rhamnose; Ara, arabinose; Gal, galactose; Glc, glucose; Xyl, xylose; Man, mannose

²⁾ND, non-detected

Table 5. Changes in non-cellulosic neutral sugar contents of Na₂CO₃-soluble material(SSM) extracted from cell wall materials of green and mature persimmon fruits according to ethylene treatment (50 $\mu\text{l} \cdot \text{L}^{-1}$).

Ripening Stage	Times of treatment (hours)	Non-cellulosic neutral sugar (mg/g SSM) ¹⁾						
		Total	Rha	Ara	Gal	Glc	Xyl	Man
Green Persimmon	0	4.10	0.41	1.44	1.93	0.20	0.12	ND ²⁾
	24	8.08	0.88	2.94	3.57	0.23	0.35	0.11
	48	4.37	0.57	1.94	1.58	0.12	0.16	ND
Mature Persimmon	96	2.86	0.36	1.00	1.13	0.15	0.16	0.06
	0	6.72	0.99	2.98	3.18	0.22	0.13	ND
	24	7.64	0.55	3.42	3.43	0.21	0.03	ND
Mature Persimmon	48	5.24	1.69	1.59	1.48	0.31	0.17	ND
	96	1.94	0.53	0.56	0.63	0.13	0.09	ND

^{1) and 2)} Footnote is same as Table 4.

강 등(10)은 자연 성숙을 통하여 변화되는 감에서는 CDTA 가용성 물질중에 존재하는 중성당의 총 함량이 녹숙기에서 성숙기까지는 감소하고, 변화기에는 다소 증가하는 경향이라고 보고하였다. 또한 Na₂CO₃ 분획에 존재하는 총 중성당은 녹숙기에서 성숙기까지는 증가하였지만, 변화기에는 감소하는 경향이 있다고 보고한 바 있다. 이같은 결과들을 상기의 에틸렌 처리 과실의 CDTA 및 Na₂CO₃ 분획과 비교해 볼 때 자연 성숙과실과 에틸렌 처리 과실 모두 변화가 상당히 진행되면 주 구성당의 함량이 현저히 낮아지는 점과 변화초기에는 이들의 함량이 증가하는 점에서는 비슷하였다. 4M KOH에 의하여 분리된 총 중성당의 변화를 보면, 녹숙과와 성숙과 모두 24시간의 에틸렌 처리에 의하여 세포벽 총 중성당 함량이 현저히 증가하였으며 성숙과의 경우는 96시간 처리 과실에서는 이들이 다시 감소하는 경향이 있었다. 자연으로 성숙중인 감에서도 변화기에는 성숙기에 비하여 비섬유성 중성당이 감소하여 자연연화와 에틸렌 처리에 의한 변화간에 세포벽 비섬유성 중성당의 변화 양상에는 큰 차이가 없는 것으로 생각되었다. 그리고 이 분획의 주 구성당은 glucose, galactose 및 xylose로 이루어져 있었으며, glucose와 xylose의 양은 CDTA 및 Na₂CO₃ 분획에서 보다 수십배 정도 많았다. 이 분획의 주 구성당인 glucose, galactose 및 xylose는 녹숙기에서는 에틸렌 처리에 따른 변화의 진행과 함께 그 함량이 아주 서서히 감소하는 경향을 보였지만 성숙기에서는 에틸렌 처리시간이 늘어남에 따라 이들 중성당 함량이 현저히 감소하였다(Table 6). 이 결과로 미루어 볼 때 4M KOH 분획에는 헤미셀룰로오스를 구성하는 중성다당류들이 많이 존재하고 있음

을 알 수 있었다. 96시간 에틸렌 처리 성숙기 감 과실에서 세포벽의 xylose, galactose 및 glucose 함량이 급격히 감소한 이유는 오랜시간의 에틸렌 처리에 의하여 과실의 연화가 현저히 진행되었으므로 이미 이들 헤미셀룰로오스 구성 성분들이 거의 가용화되어 PAW추출에 의한 세포벽 조제 및 각종 용매를 사용한 펙틴분획 과정에서 많은 양이 떨어져 나가고 적은 양만이 세포벽에 남아 있었기 때문에 변화기의 4M KOH 분획에서는 그 양이 감소한 것으로 추정된다. 불용성물질중에 존재하는 총 중성당은 큰 변화가 없었으며 이들의 주 구성당은 glucose, galactose 및 xylose로 이루어져 있었다. 그리고 에틸렌 처리 시간이 경과할 수록 rhamnose, arabinose와 galactose의 함량은 크게 감소한 반면 xylose는 보다 완만하게 감소하였고, glucose와 mannose의 함량은 처리시간에 따라 일정한 경향의 변화를 나타내지 못하였다(Table 7).

Table 6. Changes in non-cellulosic neutral sugar contents of 4M KOH-soluble(ASM-1) material extracted from cell wall materials of green and mature persimmon fruits according to ethylene treatment(50 $\mu\text{l} \cdot \text{L}^{-1}$).

Ripening Stage	Time of treatment (hours)	Non-cellulosic neutral sugar (mg/g ASM-1) ¹⁾						
		Total	Rha	Ara	Gal	Glc	Xyl	Man
Green Persimmon	0	10.91	0.08	0.54	2.52	5.60	1.49	0.68
	24	25.54	0.17	1.04	5.83	13.07	4.02	1.41
	48	31.35	0.29	0.97	6.82	17.38	3.04	2.85
Mature Persimmon	96	27.31	0.06	0.82	6.03	15.60	2.05	2.75
	0	11.33	0.09	0.29	1.74	7.18	1.34	0.69
	24	43.09	1.03	3.10	12.99	7.14	15.57	3.26
Mature Persimmon	48	20.33	0.19	1.43	4.79	7.10	5.55	1.27
	96	5.99	0.08	1.03	2.14	1.56	0.80	0.38

¹⁾Footnote is same as Table 4.

Table 7. Changes in non-cellulosic neutral sugar contents of insoluble material(ISM) extracted from cell wall materials of green and mature persimmon fruits according to ethylene treatment(50 $\mu\text{l} \cdot \text{L}^{-1}$).

Ripening Stage	Times of treatment (hours)	Non-cellulosic neutral sugar (mg/g ISM) ¹⁾						
		Total	Rha	Ara	Gal	Glc	Xyl	Man
Green Persimmon	0	13.79	0.29	1.30	6.17	5.18	0.53	0.32
	24	19.60	0.34	0.94	3.49	13.69	0.49	0.65
	48	20.64	0.27	0.69	2.87	15.72	0.35	0.74
	96	15.11	0.07	0.17	0.95	12.94	0.28	0.70
Mature Persimmon	0	13.25	0.30	1.20	4.14	6.27	0.81	0.53
	24	11.47	0.21	0.58	2.67	7.47	0.29	0.25
	48	15.43	0.24	0.74	2.18	11.50	0.28	0.49
	96	15.83	0.13	0.67	1.25	12.89	0.25	0.64

¹⁾Footnote is same as Table 4.

세포벽성분의 분자량 변화

증류수 가용성분획에서의 분자량 변화

에틸렌 처리 시간에 따른 증류수 가용성분획의 polyuronide(PU)에 대한 분자량 크기별 분포를 보면, 녹숙기에는 73 kilodalton(kD) 이상의 고분자 polymer들의 분포비율이 에틸렌 처리 시간의 경과에 따라 무처리(37.0%) > 24시간 처리(28.2%) > 96시간 처리(25.0%)의 순서로 감소하는 경향을 보였으며, 73~40 kD의 저분자 polymer들의 비율은 증가하였다. 한편 에틸렌 처리 시간에 따른 polysaccharide(PS)의 분포비율을 보면 PU에서와 마찬가지로 무처리(33.9%) > 에틸렌 24시간처리(27.9%) > 에틸렌 96시간 처리(21.4%)의 순서로 73kD 이상의 고분자 PS polymer들의 분포비율이 높았다(Fig. 1-1).

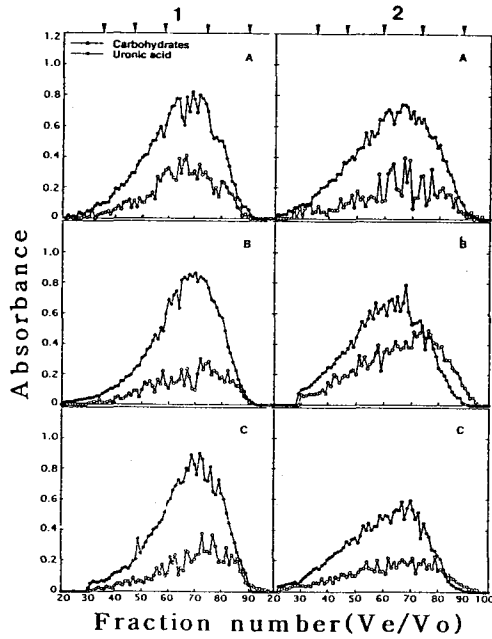


Fig. 1. Gel permeation profiles of water-soluble fractions of cell wall materials according to $50 \mu\text{l} \cdot \text{L}^{-1}$ ethylene treatment at green and mature persimmon fruits on Sepharose 4B.

Column fractions were assayed for total carbohydrate using the phenol-sulfuric acid method (A490 nm) and for polyuronide using carbazole method (A530nm). 1, Green stage; 2, Mature stage. A, Non-treatment of ethylene; B, 24 hours of ethylene treatment; C, 96 hours of ethylene treatment. Arrows at the top of the figure represent the elution positions (from left to right) of blue dextran 2,000, 515, 73, 40 and 10 kD.

그러나 성숙기의 과실에서는 에틸렌 처리 시간의

증가에 비례하여 PU비율의 감소는 뚜렷하지 않았다 (Fig. 1-2). 그리고 고분자 PS의 비율 역시 에틸렌 처리 시간에 따라 비례적으로 증가하지는 않았지만, 에틸렌 96시간 처리의 경우에는 PS의 저분자화가 많이 일어났음을 알 수 있었다(Fig. 1-2). 이러한 결과로 미루어 보아 전체적으로 볼 때 에틸렌 처리 시간이 늘어남에 따라 PU와 PS들이 저분자화되고 있음을 알 수 있었고, 이같은 현상은 정상적으로 연화되는 감 과실(11)에서와 비슷한 경향을 나타내는 것으로 생각되었다.

CDTA 및 Na_2CO_3 가용성분획에서의 분자량 변화

에틸렌 처리 시간에 따른 CDTA 가용성 분획에서의 PU 분자량의 크기별 분포를 보면, 녹숙기에는 73kD 이상의 고분자 polymer들의 비율이 무처리에는 72.2%인데 비하여 에틸렌 24시간 및 96시간 처리 과실에서는 이들의 비율이 각각 2.0%였다.

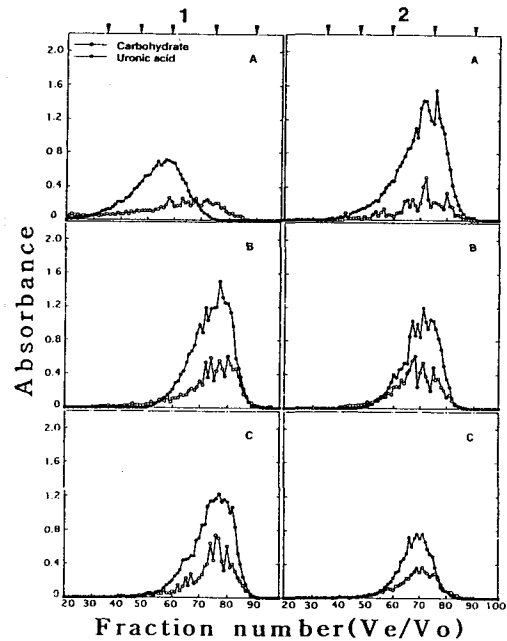


Fig. 2. Gel permeation profiles of CDTA-soluble fractions of cell wall materials according to $50 \mu\text{l} \cdot \text{L}^{-1}$ ethylene treatment at green and mature persimmon fruits on Sepharose CL-2B.

Footnote is same as Fig. 1.

또한 성숙기에서는 73kD 이상의 고분자 polymer들의 비율이 무처리 과실에서는 14.6%인데 비하여 24시간 및 96시간 에틸렌 처리 과실에서는 이들의 비

율이 각각 7.6%와 4.0%였다. 이같은 결과로 미루어 볼 때 CDTA 분획에서도 에틸렌 처리 시간이 증가할 수록 고분자물질들의 저분자화가 급격히 진행되고 있음을 알 수 있었다. 한편 CDTA에 의하여 가용화되는 PS의 양은 PU에 비하여 상대적으로 낮았다.

73kD 이상의 분자량을 갖는 PS polymer들의 비율이 녹숙기에는 무처리 과실에서는 45.5%였으나 에틸렌 24시간 처리 및 96시간 처리 과실에서는 각각 11.0 및 3.0%였다. 성숙기에서도 73kD 이상의 고분자 polymer들의 비율이 무처리 과실에서는 16.2%, 그리고 에틸렌 24시간 처리 및 96시간 처리 과실에서는 각각 15.0 및 7.0%로서 에틸렌 처리 시간이 증가함에 따라 고분자 PS의 비율이 급격히 감소하였다(Fig. 2-1, 2). Na_2CO_3 가용성 분획에서의 PU 분자량의 크기별 분포는 녹숙기와 성숙기 모두에서 73kD 이상되는 polymer들의 분포는 아주 적었으며 대부분이 그 이하의 분자량을 갖는 polymer들로 구성되어 있었다. 73kD 이하의 분자량을 갖는 polymer들의 분포비율을 보면 녹숙기에서는 무처리 과실은 72.9%, 그리고 에틸렌 24시간 처리 과실은 99.0%, 에틸렌 96시간 처리 과실에서는 100.0%였다. 성숙기에서도 이들의 분포비율이 78.9, 99.0 및 100.0%로서 에틸렌 처리에 따라 과실 세포벽의 고분자 펙틴이 급격히 저분자화되어 거의 대부분의 polymer들이 73kD 이하의 분자량을 갖고 있음을 알 수 있었다. 그리고 PS의 크기별 분포는 녹숙기에서 73kD 이상되는 polymer들의 분포비율이 무처리, 24시간 및 96시간 에틸렌 처리에서 각각 13.0, 1.0 및 0.0%였고, 성숙기에서는 이들의 비율이 각각 24.4, 2.0 및 0.0%였다(Fig. 3-1, 2). 이처럼 CDTA 및 Na_2CO_3 분획에서 에틸렌 처리 시간이 경과됨에 따라 고분자 polymer들의 감소와 저분자 polymer들의 증가가 현저한 사실은 감 과실이 에틸렌에 의하여 연화되는 동안 세포벽으로부터 펙틴이 분해되어 결합력이 약한 상태로 세포벽에 존재해 있다 가 이들 용매에 의해서 가용화된 것으로 생각되었다.

4M KOH 가용성분획에서의 분자량 변화

4M KOH 가용성 분획에서는 다른 분획들과 달리 세포벽 성분 중의 PU 함량이 PS 함량에 비하여 현저히 낮았다. 에틸렌 처리 시간에 따른 이 분획에서의 PU 분자량의 분포를 보면(Fig. 4-1, 2), 녹숙기에서는 73kD 이상의 고분자 polymer들의 분포비율이 무처리 과실에서는 30.0%인데 비하여 24시간 및 96시간 에틸렌 처리 과실에서는 11.0 및 8.0%였고, 성숙기에서는 이들의 분포비율이 16.0, 11.3 및 8.0%였다. PS 역시 분자량 73kD이상의 분포비율이 녹숙기에서는

40.2, 15.0 및 11.7%였으며, 성숙기에서는 24.0, 20.0 및 12.0%였다. 즉, PU와 마찬가지로 PS 역시 에틸렌 처리 시간이 늘어나 과실의 연화가 급속히 진행됨에 따라 고분자 polymer들이 계속 감소하고, 저분자 polymer들은 계속 증가하였다.

강 등(11)에 의하면 정상적인 감 과실의 성숙과 연화과정에서는 녹숙기에서 성숙기까지 73kD이상의 고분자 PU polymer들의 비율이 현저히 증가한 점으로 미루어 이 기간 동안에는 세포벽 물질중에서 펙틴질 주사슬의 중합(polymerization)이 계속 일어난다고 보고한 바 있다. 그러나 본 결과에서는 녹숙기와 성숙기의 감 과실에 에틸렌을 처리했을 때에는 에틸렌 처리 시간이 증가할 수록 세포벽 펙틴과 고분자 다당류의 가용화와 분해가 더욱 심하게 일어나고 있음을 알 수 있었다(Fig. 1, 2, 3, 4). 따라서 정상적인 감의 성숙 및 연화 기구와 에틸렌 처리에 의한 연화 기구가 동일하지 않음을 시사해 준다. 나무에 달린 채 성숙이 진행되는 감에 있어서는 에틸렌의 합성이 일어나지 않는 조건하에서 과실의 연화가 아주 서서히 진행된다.

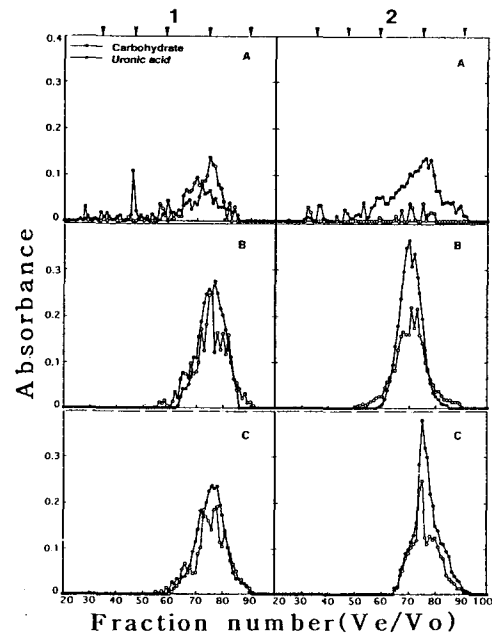


Fig. 3. Gel permeation profiles of Na_2CO_3 -soluble fractions of cell wall materials according to $50\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ ethylene treatment at green and mature persimmon fruits on Sepharose CL-2B.

Footnote is same as Fig. 1.

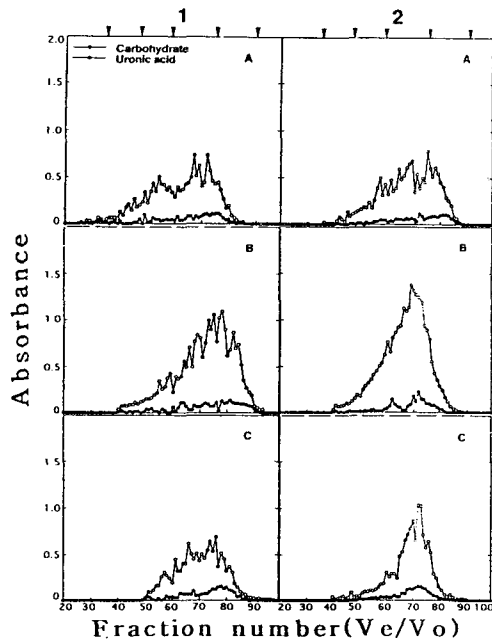


Fig. 4. Gel permeation profiles of 4M KOH-soluble fractions of cell wall materials according to $50 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ ethylene treatment at green and mature persimmon fruits on Sepharose CL-2B.

Footnote is same as Fig. 1.

그리고 이 때에는 세포벽 펙틴질 주사슬의 중합이 일어나지만(11), 본 시험에서와 같이 녹숙기와 성숙기에 에틸렌을 처리한 감 과실에서는 에틸렌 처리시간이 경과할 수록 과실연화가 심하게 일어났으며 펙틴 분획에서 펙틴질 주사슬인 UPA의 중합이 일어나는 증거가 없었으며, 오히려 UPA의 분자량이 현저히 감소되고 있는 사실로 미루어 PU의 분해가 주로 일어나고 있음을 알 수 있었다. 또한 강 등(12)에서 변색기와 성숙기 과실의 세포벽분해효소 활성화에 미치는 에틸렌 처리 효과를 보면 세포벽 성분인 중성당 polymer들을 분해하는 가용성 효소들은 그 종류에 관계없이 모두 성숙기의 과실에서는 에틸렌 처리시간의 경과에 따른 활성의 증가가 현저하였으나 변색기 과실에서는 에틸렌 처리 과실의 연화속도가 성숙기의 에틸렌 처리 과실에서 보다 빨랐음에도 불구하고 에틸렌 처리 시간의 경과에 따른 효소활성의 증가가 뚜렷하지 않았다고 하였다. 이같은 결과들로 미루어 볼 때 에틸렌 처리에 의한 감 과실의 연화는 에틸렌이 감 과실의 세포벽분해효소를 활성화시켜 연화를 일으키도록 하는 기작도 일부 관련되어 있을 수 있겠으나 자연성숙되는 감에서처럼 세포벽분해효소의

활성화를 일으키는 기작이 아닌 다른 경로를 통한 연화기작에 에틸렌이 깊이 관련되어 있을 가능성이 큰 것으로 생각되었다.

요 약

본 연구에서는 녹숙기와 성숙기의 감 과실에 외부에서 에틸렌($50 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$)을 처리하였을 때 처리시간에 따라 과실의 경도, 에틸렌 발생량, 세포벽 성분의 변화 그리고 세포벽 펙틴의 주사슬을 형성하는 polyuronide(PU) 및 겔사슬을 형성하는 polysaccharide(PS)의 가용화와 분해가 어떻게 달라지는지를 알고저 하였다.

에틸렌을 처리하였을 때 녹숙기와 성숙기 감 모두 처리 시간이 경과될 수록 과실의 경도가 급격히 감소하였으며, 감소의 정도는 녹숙기 감에서 더 심하였다. 녹숙기에 에틸렌을 12시간 처리한 과실에서는 처리 3일 후부터 에틸렌이 발생하기 시작하였으며, 에틸렌 발생량은 24시간 에틸렌 처리에서는 최대 $16,000 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 에 달하였다. 성숙기의 감에서는 24시간 동안 에틸렌을 처리하여도 처리후 7일까지는 에틸렌발생이 없었다. 에틸렌 처리 시간의 증가에 따른 세포벽 펙틴물질의 변화를 보면, 증류수, 0.05M Na_2CO_3 , 4M 및 8M KOH 가용성분획에서는 연화가 진행됨에 따라 펙틴함량은 감소하였다. 각 분획별 비섬유성 중성당의 종류를 보면 0.05M CDTA 및 0.05M Na_2CO_3 가용성 분획에서의 주요 구성당은 arabinose와 galactose이었고, 4M KOH 가용성 분획에서는 glucose, galactose 및 xylose였다. 에틸렌 처리 시간별 PU와 PS의 가용화와 분해정도를 보면, 증류수, CDTA, Na_2CO_3 및 4M KOH 가용성 분획에서는 에틸렌 처리 시간이 진행됨에 따라 고분자 PU와 PS의 가용화와 저분자화가 진행되었다.

감사의 글

이 논문은 1995년도 한국학술진흥재단의 자유공모 과제 연구비에 의하여 수행되었음.

참고문헌

1. Huber, D.J. (1983) The role of cell wall hydrolases in fruit softening. *Hort. Rev.* 5, 169-219

2. Gross, K.C. and S.J. Wallner. (1979) Degradation of cell wall polysaccharides during tomato fruit ripening. *Plant Physiol.* **63**, 117-120.
3. Knee, M. (1978) Properties of polygalacturonase and cell cohesion in apple fruit cortical tissue. *Phytochem.* **17**, 1257-1260.
4. Kim J.K., K.C. Gross, and T. Solomos. (1987) Characterization of the stimulation of ethylene production by galactose in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) fruit. *Plant Physiol.* **85**, 804-807.
5. Bartley, I.M. (1977) A further study of β -galactosidase activity in apples ripening in storage. *J. Exp. Bot.* **28**, 943-948.
6. Smith, C.J.S., C.F. Watson, J. Ray, C.R. Bird, P.C. Morris, W. Schuch, and D. Grierson. (1988) Antisense RNA inhibition of polygalacturonase gene expression in transgenic tomatoes. *Nature* **334**, 724-726.
7. Giovannoni, J.J., D. Della Penna, A.B. Bennett, and R.L. Fisher. (1989) Expression of a chimeric polygalacturonase gene in transgenic rin (ripening inhibitor) tomato fruit results in polyuronide degradation but no fruit softening. *The Plant Cell.* **1**, 53-63.
8. Brady, C.J. (1987) Fruit ripening. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **38**, 155-178.
9. Tucker, G.A. and D. Grierson. (1987) Fruit ripening. In *The biochemistry of plants - A comprehensive treatise*, D.D. Davies(Editor.), Academic Press. Vol. 12, p265-318.
10. 강인규, 장경호, 변재균(1998) 감 과일의成熟과軟化에 따른 세포벽成分的變化. 한국원예학회지, **39(1)**, 46-50.
11. 강인규, 장경호, 변재균(1998) 감 과일의成熟과軟化에 따른 펙틴 및 중성다당류의可溶化와分解. 한국원예학회지, **39(1)**, 51-54.
12. 강인규, 장경호, 변재균(1998) 감 과일의成熟과軟化에 따른 세포벽分解酵素들의活性變化. 한국원예학회지, **39(1)**, 55-59.
13. Redgwell, R. J., Melton, L. D. and Brasch, D. J.(1990) Cell wall changes in kiwifruit following postharvest ethylene treatment. *Phytochem.*, **29**, 399-407.
14. Bitter, T. and Muir H. M.(1962) A modified uronic acid carbazole reaction. *Anal Biochem.*, **4**, 330-334.
15. Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. and Smith, F.(1956) Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, **28**, 350-356.
16. Ben-Aire, R., Sonogo, L. and Frenkel, C.(1979) Changes in pectic substances in ripening pears. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **104**, 500-505.
17. Blakeney, A.B., Harris, P.J., Henry, R.T. and Stone, B.A.(1983) A simple and rapid preparation of alditol acetates for monosaccharide analysis. *Carbohydr. Res.*, **113**, 291-299.
18. Gross, K.C.(1984) Fractionation and partial characterization of cell walls from normal and non-ripening mutant tomato fruit. *Physiol. Plant.*, **62**, 25-32.
19. Gross, K.C. and Sams, C.E.(1984) Changes in cell wall neutral sugar composition during fruit ripening: a species survey. *Phytochem.*, **23**, 2457-2461.
20. Redgwell, R.J., Melton, L.D. and Brasch, D.J.(1992) Cell wall dissolution in ripening kiwifruit. -Solubilization of pectic polymers. *Plant Physiol.*, **98**, 71-81.
21. Cutillas-Iturralde, A., Zarra, I. and Lorences, E. P.(1993) Metabolism of cell wall polysaccharides from persimmon fruit. Pectin solubilization during fruit ripening occurs in apparent absence of polygalacturonase activity. *Physiol. Plant.*, **89**, 369-375.
22. Cutillas-Iturralde, A., Zarra, I., Stephan, C.F. and Lorences, E.P.(1994) Implication of persimmon fruit hemicellulose metabolism in the softening process. Importance of xyloglucan endotransglycosylase. *Physiol. Plant.*, **91**, 169-176.
23. Shin, S. R.(1989) Changes in the cell wall components, enzyme activities, protein and structure of persimmon fruit (*Diospyros kaki* L.) during softening. Ph.D dissertation. Yeungnam University Graduate School, Taegu, Korea.
24. Yoshioka, H., Aoba, K. and Kashimura, Y.(1992) Molecular weight and degree of methoxylation in cell wall polyuronide during softening in pear and apple fruit. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **117(4)**, 600-606.

(1998년 4월 9일 접수)