

부유 단감 과실의 과육 갈변에 대한 에틸렌의 영향

최 성 진

대구효성가톨릭대학교 식물육종학과

The Effect of Ethylene on the Fruit Flesh Browning in Fuyu Persimmon

Seong-Jin Choi

Dept. of Plant Breeding, Catholic University of Taegu-Hyosung

Abstract

Ethylene was treated or inhibited to investigate its effect on the physiological changes related to induction of flesh browning in Fuyu persimmon fruit. The response of fruit to ethylene was so slight, that the Fuyu fruit seemed to possess a similar characteristic to non-climacteric fruit. The flesh browning was however enhanced by ethylene treatment, although any significant increment of phenolic content or PPO activity in flesh tissue was not detected. Ethylene induced not only increasing of ion leakage from fruit tissue, but the fatty acids extracted from ethylene-treated fruit tissue were also more saturated. It was suggested that ethylene be related in the changing of membrane permeability via saturating of fatty acid in membrane lipid. That could result in increased leakage of vacuole-stored phenolic compounds, which oxidized further by PPO to cause fruit flesh to brown.

Key words : persimmon fruit, ethylene, flesh browning

서 론

수확 후 부유 단감 과실의 품질 저하는 과육의 연화 뿐만 아니라, 과피나 과육의 흑변 또는 갈변과 같이 주로 변색에 의해 나타나는 것으로 알려져 있다. 따라서 단감 과실의 품질을 장기간 유지하기 위한 방법으로 PE film 포장 후 저온 저장하는 방법이 관행적으로 이루어지고 있으나, 이러한 저장 방법에 있어서 과실의 경도 유지는 비교적 장기간 가능한 반면 해와 재배 지역에 따라서는 과육에 갈변이 발생되어 과실의 상품 가치가 상실되는 손실이 발생하기도 한다. 그러나 단감에서 발생하는 과육 갈변의 기작은 아직 구체적으로 밝혀져 있지 않

며, 단지 재배 지역에 따라 갈변 발생율에 큰 차이를 보이므로 일차적으로 재배적 요인이 갈변 발생과 밀접하게 관련되어 있는 것으로 추측되고 있다. 한편 PE film 포장 없이 단감 과실을 저온 조건에서 저장할 경우 과육의 연화는 비교적 빠르나 과육의 갈변 발생율은 매우 낮아지는 경향을 보이는 것으로 알려져 있으며 이러한 사실은 재배적 요인 뿐만 아니라 저장 요인 또한 과육의 갈변에 관련되어 있음을 보인다. 일반적으로 과실에서 발생하는 에틸렌은 과실의 성숙 및 노화를 촉진시킴으로써 수확 후 과실의 품질 유지에 부정적인 영향을 끼치는 것으로 알려져 있으며 단감 과실의 PE film 밀봉시에는 봉지내에 에틸렌의 축적이 이루어

지게 되는데, 이러한 에틸렌의 축적에 의해 저장 중 과실의 갈변 발생율이 증가하는 것으로 추측되기도 한다. 따라서 본 실험에서는 단감 과실에서 과육 갈변의 유도와 관련된 생리적 변화에 대한 에틸렌의 효과를 에틸렌 처리 및 작용 억제제를 통하여 조사하고자 하였다.

재료 및 방법

공시재료 및 처리

11월 초순에 경남 창녕 지역에서 수확하여 0.08mm PE film에 밀봉 후 0°C에서 1개월간 관행적 방법으로 저장된 부유 단감 과실을 실험에 이용하였다. 실험구의 처리는 실온 조건(15-20°C)에서 이루어졌으며 에틸렌 또는 2,5-NDE (2,5-Norbornadiene, Bicyclo[2, 2, 1] hepta-2,5-diene)의 처리를 위하여 과실을 20L의 용기에 밀폐한 후, 계산된 양의 에틸렌 또는 2,5-NDE를 용기 내에 주입함으로써 에틸렌 및 2,5-NDE의 농도를 각각 100ppm 및 1000ppm으로 유지하였다. 2,5-NDE는 에틸렌 작용 억제제로서 1000ppm의 2,5-NDE는 약 10ppm의 에틸렌에 대해 길항 작용을 나타내는 것으로 알려져 있다. 무처리의 경우에는 처리 과실을 Purafil (KMnO₄+Alumina)과 함께 밀폐하여 에틸렌의 축적을 방지하였다. 한편 과실의 호흡에 따른 용기내 CO₂의 축적을 방지하기 위하여 모든 처리구에는 20% KOH 용액 약 200ml을 비이커에 담아 과실이 밀폐된 용기내에 첨가하였다. 처리 기간 동안 밀폐 용기를 매일 환기한 후 에틸렌 및 2,5-NDE 처리구의 경우 새롭게 에틸렌 또는 2,5-NDE를 주입하였으며 각 처리구 공히 3일 간격으로 시료를 채취하여 분석에 이용하였다.

EFE Test

과실 적도면에서 과피 조직 절편(두께 3mm, 1cm×1cm) 2.0g을 취하여 2mM의 ACC를 첨가 또는 첨가하지 않은 MES buffer(50mM, pH 6.0) 용액에 1시간 동안 incubation한 후 15ml의 용기에 조직 절편을 밀폐하여 용기내에 축적된

에틸렌의 양을 GC(Shimadzu 14B, activated alumina column, 60/80mesh, 2m×2mm, 110°C, FID)를 이용하여 분석함으로써 과실 조직이 외생 ACC를 에틸렌으로 전환하는 능력을 측정하였다.

이온 용출(Ion Leakage)의 측정

과육 조직의 ion leakage는 cork borer를 이용하여 얻은 과육 조직 절편(두께 3mm, 지름 1cm) 4개에 대하여 측정하였다. 즉 조직 절편을 20ml의 초순수에 25°C에서 2시간 동안 incubation한 후의 용액의 전기 전도도와 조직을 용액과 함께 동결 해동한 후의 용액의 전기 전도도를 측정함으로써, 조직 내 총 이온량(동결 해동후 이온 용출량)에 대해 2시간 동안에 용출된 이온량의 비율을 percentage로써 표시하였다. 전기 전도도의 측정에는 Orion Model 160의 conductivity meter를 이용하였다.

과육 경도의 측정

과실을 적도면에서 절단한 후, 과피로부터 약 5mm의 내부 과육 3개 지점에 대해 5mm 직경의 탐침을 7mm의 깊이로 침투시키는데에 요구되는 압력을 texture meter(Yamaden, Rhenor RE-3305)에 의해 측정하여 $\text{dyne} \times 10^7/\text{cm}^2$ 으로 표시하였다.

지방산의 분석

과육 조직 10g을 30ml의 chloroform:methanol(1:2) 용액에 마쇄한 후 sintered glass funnel에 여과하여 얻은 용액에 잔사를 다시 chloroform으로 추출하여 얻은 용액을 합하고 0.88% KCl 10ml을 첨가하여 혼합한 다음 chloroform층을 취함으로써 lipid를 추출하였다. 이 추출 용액에 40°C에서 N₂ gas를 불어 넣어 chloroform을 제거한 후 lipid 성분을 5ml의 hexane에 용해하여 silica Sep-Pak cartridge를 통과시킨 다음 cartridge를 20ml의 chloroform으로 세척하고 20ml의 methanol로써 cartridge중의 polar lipid 성분을 회수하였다. 이 추출 용액에 40°C에서 N₂ gas를 불어 넣어 methanol을 제거한 다음 1ml의 14% BF₃(in methanol)을 가하

고 90°C에서 90분간 methylation시킨 후 2ml의 pentane:H₂O(2:1)를 가하여 fatty acid의 methyl ester를 pentane층으로 회수하였으며, fatty acid methyl ester는 GC(Shimadzu 14B, Supelcowax 10 column, 30m×0.53mm, 1.0um FT, 240°C, FID)를 이용하여 분석하였다.

PPO(Polyphenol Oxidase)의 분석

10g의 과육 조직을 액체 질소에 동결하여 마쇄한 후 20ml의 sodium phosphate buffer 용액(0.2M, pH 5.25, 2% Triton X-100, 5mM PMSF, 2.3% PVP, 4.7% Amberlite XAD-4)을 첨가하여 homogenization시켜 원심 분리한 상등액을 crude enzyme extract로 이용하였다. 효소 추출액의 protein 함량은 Bradford 방법에 의해 측정하였으며, 효소 추출액 0.2ml을 2.8ml의 assay buffer(sodium phosphate buffer, 50mM, pH 3.5, 10mM DL-Dopa)와 혼합한 후 25°C 조건에서 incubation하면서 30초 간격으로 475nm에서의 흡광도를 조사함으로써 PPO 활성을 A₄₇₅의 변화량/ug protein/min으로 표시하였다.

Total Phenolics의 분석

5g의 과육에 25ml의 80% ethanol을 가하여 마쇄하고 원심 분리한 상등액 10ml에 0.2ml의 Folin-Ciocalteu 용액을 첨가한 다음 3분 후 1ml의 sodium carbonate를 가하고 1시간 incubation한 후 725nm에서 흡광도를 측정하였으며, pyrocatechol을 standard로 한 표준 곡선으로부터 과육 중 total phenolics의 함량을 계산하였다.

결과 및 고찰

일반적으로 climacteric type 과실의 성숙 및 노화는 에틸렌에 의해 유도되며 이러한 종류의 과실은 수확 후 성숙 시기에 이르러 호흡의 증가와 더불어 에틸렌 생성의 급격한 증가가 관찰된다. 그러나 Takada(1993)의 보고에 따르면, 부유 단감 과실에 있어서 성숙기 이전의 미숙 과실을 수확하면 호흡 및 에틸렌 생성의 증

Table 1. The effect of ethylene treatment on EFE activity in persimmon fruits. The fruits were treated with 100ppm ethylene for 3 days at room temperature

Control		Ethylene	
+ACC	-ACC	+ACC	-ACC
nl C ₂ H ₄ /g/hr			
0.03	0	0.05	0

가가 관찰되는데 비하여, 성숙 과실의 경우에는 호흡의 증가는 관찰되지만 성숙이 진행될수록 에틸렌의 생성은 오히려 급격히 감소하여 일반적인 climacteric type 과실에서의 에틸렌 발생 양상과는 상이한 경향을 보인다고 하였다[7]. 본 실험에서 이용된 단감 과실은 생리적인 성숙이 사실상 완료된 적정 수확기 이후에 수확된 과실로서, 일반적으로 climacteric type 과실의 경우 이러한 시점에 이르면 과실은 에틸렌에 매우 민감하게 반응하여 에틸렌의 처리 효과가 뚜렷하게 관찰된다. 이러한 에틸렌 처리의 대표적 효과 중의 하나는 과실의 성숙기에 나타나는 자축매적 에틸렌 생성의 증가와 관련된 EFE(ACC oxidase) 활성의 증가로서 예를 들어 사과(Delicious) 과실 또는 토마토(Rutgers) 과실의 경우 100ppm 에틸렌 24시간 처리에 의해 약 5-10배의 EFE 활성의 증가를 관찰할 수 있다[1]. 그러나 단감 과실에서는 100ppm의 에틸렌을 3일간 처리한 후 EFE 활성의 변화를 조사한 결과(표1), 사실상 EFE 활성의 증가는 관찰되지 않았다. 이러한 사실은 단감 과실이 수확 후 에틸렌의 생성 능력이 미약할 뿐만 아니라[7], 또한 에틸렌에 매우 둔감함을 보이며, 다른 climacteric type 과실의 경우에서 처럼 에틸렌이 과실의 성숙 유도에 직접적으로 관련되어 있지는 않은 것으로 생각된다. 한편 non-climacteric 과실의 경우 비록 에틸렌 생성량은 낮으며 성숙의 유도가 에틸렌의 작용과 직접적으로 관련되어 있지는 않음에도 불구하고 외생적으로 에틸렌을 처리할 경우 성숙 또는 노화와 관련된 생화학적 변화는 촉진되는 것으로 알려져 있으며, 본 실험에서 단감 과실에 에틸

렌을 처리할 경우 무처리 또는 에틸렌 억제제의 처리에 비해 과육의 연화가 급속하게 진행되는 것으로 관찰되었다(그림 1), 그러나 에틸렌 억제제에 따른 과육 연화 억제 효과는 뚜렷하지 않았다. 따라서 이러한 사실에서 볼 때, 단감 과실은 climacteric 과실 보다는 non-climacteric 과실에 유사한 특성을 지니는 것으로 보이며, 에틸렌이 직접적으로 과실의 성숙에 관련되어 있지는 않으나 간접적인 경로를 통하여 조직의 노화를 촉진하는 것으로 보인다.

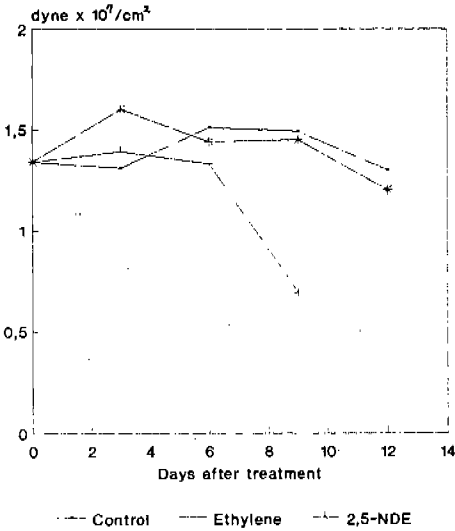


Fig. 1. The changes in flesh firmness during the treatment of persimmon fruits with 100ppm of ethylene and 1000ppm of 2, 5-NDE at room temperature.

식물 조직의 갈변에는 일반적으로 PPO에 의한 polyphenol의 산화가 관련되어 있는 것으로 알려져 있으며[2, 9], 본 실험에서는 단감 과실의 과육 갈변과 관련하여 에틸렌의 처리 및 억제에 따른 PPO 활성의 변화 및 조직내 phenol 화합물 함량의 변화를 조사하였다(그림 2와 3). 갈변 현상은 에틸렌의 처리에 의해 과육의 연화가 상당히 진행된 과실에서 주로 발생되었으나, 갈변이 발생된 과실에 있어서도 실제적으로 PPO 활성의 증가 또는 억제와도 무관한 것으로 관찰되었다. 한편 과실의 성숙 또는 노화

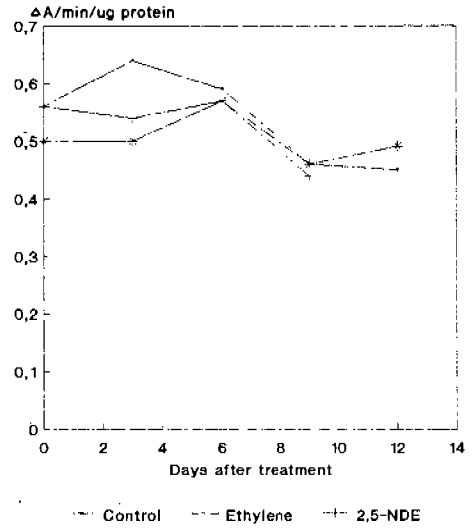


Fig. 2. The changes in PPO activity during the treatment of persimmon fruits with 100ppm of ethylene and 1000ppm of 2, 5-NDE at room temperature.

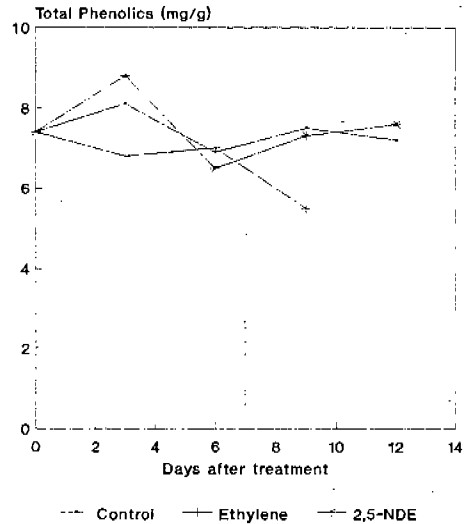


Fig. 3. The changes in phenolic content during the treatment of persimmon fruits with 100ppm of ethylene and 1000ppm of 2, 5-NDE at room temperature.

노화 과정에서는 세포막의 물리화학적 특성의 변화에 따른 세포막 투과성의 변화가 여러 종류의 과실에서 보고된 바 있으며[3, 4, 5], 비록 PPO 활성의 변화는 없다 할지라도 과실의 성숙 과정에서 세포의 구조적 변화로 인하여 PPO와 phenol 화합물의 접촉이 이루어질 경우 phenol 화합물의 효소적 산화에 따른 갈변 물질의 생성이 나타날 수 있다[6]. 따라서 본 실험에서 세포내 이온성 물질의 용출 정도에 의한 세포막의 투과성을 에틸렌 처리 및 억제 후에 측정된 결과(그림 4), 에틸렌 처리 6일 후에는 이온 용출량이 급격히 증가하여 세포막의 투과성이 증대됨을 보였으며, 이는 과육의 갈변 발생과 시기적으로 관련이 있었다. 한편 에틸렌 처리 6일 후에 세포막 구성 성분으로서 lipid의 지방산의 조성을 조사한 결과(표 2), 무처리 또는 에틸렌 억제구에 비하여 지방산의 포화도가 크게 증가한 것으로 나타났으며, 이러한 지질 포화도의 증가는 세포막의 경화를 초래하여 막 투과성을 증대시키는 것으로 알려져 있다[8].

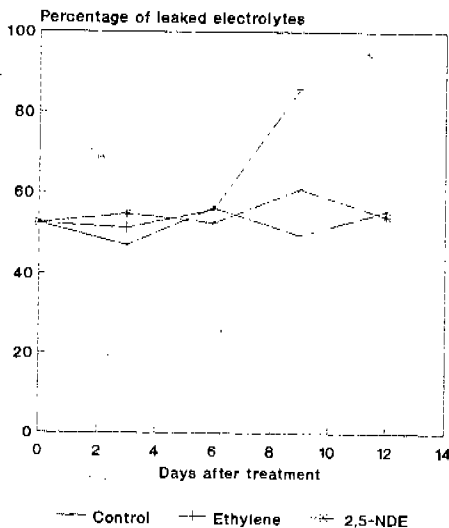


Fig. 4. The changes in ion leakage during the treatment of persimmon fruits with 100ppm of ethylene and 1000ppm of 2, 5-NDE at room temperature.

따라서 본 실험의 결과를 종합하여 볼 때, 단감 과실에서 발생하는 과육의 갈변 현상에 있어서 에틸렌은 세포막 구성 lipid 성분 중 포화 지방산의 비율을 증가시키며 이로 인해 세포막의 투과성이 증대되어 액포내에 주로 존재하는 phenol화합물의 phenol 산화 효소와의 접촉이 용이하게 이루어지게 됨에 따라 발생하는 것으로 보인다. 그러나 에틸렌이 어떠한 기작을 통하여 지방산의 포화도 증대를 야기하는지는 아직 불명확한데, 아마도 fatty acid desaturase의 활성 변화가 이에 관련이 있을 것으로 생각되며 이에 대한 보다 구체적인 연구가 요구된다.

Table 2. Fatty acid composition of persimmon fruits treated with 100ppm of ethylene and 1000ppm of 2, 5-NDE for 6 days at room temperature (%)

Fatty acids	Treatments		
	Control	C ₂ H ₄	2, 5-NDE
C 16 : 0	20.3	31.4	22.5
C 16 : 1	6.7	0	2.4
C 16 : 3	7.4	0	4.3
C 16 : 0	3.4	17.2	5.8
C 18 : 1	22.8	21.8	33.1
C 18 : 2	8.5	7.8	6.5
C 18 : 3	30.9	21.8	25.4
Total	100	100	100
Saturated fatty acid	23.7	48.6	28.3

요 약

단감 과실에서 과육 갈변의 유도과 관련된 생리적 변화에 대한 에틸렌의 효과를 에틸렌 처리 및 작용 억제제를 통하여 조사한 결과, 단감 과실은 수확 후 에틸렌의 생성 능력이 미약할 뿐만 아니라 또한 에틸렌의 처리에 매우 둔감한 반응을 나타내었다. 따라서 단감 과실은 climacteric 과실 보다는 non-climacteric 과실에 보다 유사한 특성을 지니고 있으며, 에틸렌이

직접적으로 과실의 성숙에 관련되어 있지 않으나 간접적인 경로를 통하여 조직의 노화를 촉진하는 것으로 보인다. 한편 과실의 갈변 현상은 에틸렌의 처리에 의해 과육의 연화가 상당히 진행된 과실에서 주로 발생되었으나, 갈변이 발생된 과실에 있어서도 실제적으로 PPO 활성의 증가 또는 조직내 phenol 화합물의 증감은 뚜렷하지 않았으며, 또한 에틸렌의 처리 또는 억제와도 무관한 것으로 관찰되었다. 그러나 세포내 이온성 물질의 용출 정도에 의한 세포막의 투과성을 에틸렌 처리 후에 측정된 결과, 에틸렌 처리 후에는 이온 용출량이 급격히 증가하여 세포막의 투과성이 증대됨을 보였으며, 과육의 갈변 발생과 시기적으로 관련이 있었다. 또한 에틸렌 처리 후에 세포막 구성 성분으로서 lipid의 지방산 조성의 변화를 조사한 결과, 지방산의 포화도가 크게 증가한 것으로 나타났다. 따라서 단감 과실에서 발생하는 과육의 갈변 현상에 있어서, 에틸렌은 세포막 구성 lipid의 지방산 포화도를 증가시킴으로써 세포막의 투과성 변화를 초래하며, 세포막의 투과성 증대와 더불어 액포내에 존재하는 phenol 화합물이 용출됨으로써 phenol 산화 효소와의 접촉이 용이하게 이루어지게 됨에 따라 발생하는 것으로 추측된다.

참고문헌

1. Choi, S. J., F. Bangerth, and G. Bufler. (1994) Ethylensensitivität von Apfel- und Tomatenfrüchten während ihrer Entwicklung. *Gartenbauwissenschaft* 59, 154-158.
2. Coseteng, M. Y. and C. Y. Lee. (1987) Changes in apple polyphenol oxidase and

polyphenol concentration in relation to degree of browning. *J. Fd. Sci.* 52, 985-989.

3. Lester, G. and E. Stein. (1993) Plasma membrane physicochemical changes during maturation and postharvest storage of muskmelon fruit. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 118, 223-227.
4. Lurie, S. and S. Ben-Yehoshua. (1986) Changes in membrane properties and abscisic acid during senescence of harvested Bell pepper fruit. *J. Amer. Soc. Hort.* 32, 73-83.
5. Larie, S., L. Sonogo, Fleuriet, and R. Ben-Arie. (1987) Permeability, microviscosity and chemical changes in the plasma membrane during storage of apple fruit. *Sci. Hort.* 32, 73-83.
6. Macheix, J., A. Fleuriet, and J. Billot. (1990) Changes and metabolism of phenolic compounds in fruits. IN *Fruit Phenolics*. CRC Press, Boca Raton. pp. 149-237.
7. Takada, M. (1983) Respiration, ethylene production and ripening of Japanese persimmon fruit harvested at various stages of development. *J. Jap. Soc. Hort. Sci.* 52, 78-84.
8. Thompson, J. E. (1988) The molecular basis for membrane deterioration during senescence. IN *Senescence and Aging in Plants* (eds. L. D. Nooden and A. C. Leopold). Academic Press, San Diego. pp. 52-84.
9. Weaver, C. and H. Charley. (1974) Enzymatic browning of ripening bananas. *J. Fd. Sci.* 39, 1200-1202.