

단감 과실의 과육 갈변과 세포막 투과성 및 지방산 조성 변화의 관계

최 성 진

대구효성가톨릭대학교 식물육종학과

The Relationship among Flesh Browning, Membrane Permeability, and Fatty Acid Composition in Fuyu Persimmon Fruits

Seong-Jin Choi

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

Abstract

The cell membrane properties in relation to flesh browning of Fuyu persimmon fruits during CA storage were studied. Compared to intact fruits, the flesh tissue of browned fruits showed higher rate of electrolyte leakage, indicating increased membrane permeability. It could be assumed that the increased membrane permeability results in leakage of phenolic compounds from vacuole and their oxidation by contacting with PPO, inducing finally the development of flesh browning. In addition, lower content of fatty acids and higher saturation rate of them were found in browned fruits. In conclusion, it was suggested that the inhibited fatty acid metabolism and fatty acid saturation during CA storage cause membrane permeability to increase.

Key words : electrolyte-leakage, CA storage, persimmon fruit

서 론

국내에서 부유 단감 과실은 대부분 MA (modified atmosphere) 방식에 의하여 저장되고 있으나, 근래에 들어 CA (controlled atmosphere) 시설의 보급과 더불어 단감의 CA 저장 방법에 대한 관심이 증대되고 있다. 특히 단감 과실은 다른 종류의 과실에 비하여 고이산화탄소에 대한 내성이 강하여 CA 저장 방식의 적용이 비교적 유리한 과실의 하나로 평가할 수 있다. 그러나 단감 과실의 저장 중에 발생하는 생리적 저장 장해로서 과실의 변색, 즉 과피 흑변, 과피 갈변, 과육 갈변 등은 저장 과실의 품질을 저하시키며 심할 경우 상품성의 상실을 초래하기도 한다. 이러한 저장 장해의 발생은 일반 저온 저장에 비하여 MA 저장시에 증가한다는 점에 미루어 볼 때, CA 저장시

에도 과실의 변색과 관련된 저장 장해의 발생이 문제시될 수 있다. 일반적으로 식물 조직의 변색은 페놀 화합물이 페놀 산화 효소의 작용에 의하여 산화되어 쿠논류가 생성된 후 쿠논류가 비효소적으로 중합되어 흑색 또는 갈색의 색소를 형성함으로써 나타나는 현상으로 알려져 있다(3, 8, 11). 그러나 이전의 실험 결과(4), 단감 과실의 저장 중 갈변 과실에 있어서 조직의 갈변 유발과 관련하여 조직내 페놀 화합물의 함량 또는 페놀 산화 효소 활성의 변화는 관찰되지 않았으며, 조직의 이온 용출률로서 측정한 (5, 6, 7) 세포막의 투과성 증대가 갈변의 유발에 관련이 있는 것으로 조사되었다. 또한 세포막의 투과성은 에틸렌의 처리에 의해서 증가하였는데, 저장 조건의 영향을 받아 세포막의 물리적 화학적 특성의 변화와 더불어 생리적 장해의 발생이 유도되는 것으로 생각된다. 과육 조직에서 페놀 화합물은 세포내 액포에 축적되어 있으며 페놀 화합물을 산화시키는 polyphenol oxidase는 주로 세포질에 분포되어 있는

Corresponding author : Dept. of Plant Breeding, Catholic University of Taegu-Hyosung, Hayang-Up, Kyungsan, Kyunbuk, 712-702, Korea

것으로 알려져 있는데(12), 세포막의 선택적 물질 투과 기능이 정상적으로 유지되는 조직에 있어서는 폐놀 화합물은 산화 효소와 상호 격리되어 분포되어 있으므로 효소적 산화 반응이 나타나지 않는다. 그러나 세포막이 물리적으로 손상되거나 (예, 상처) 세포막의 투과성이 증대될 경우 액포내 폐놀 화합물이 용출되어 세포질의 산화 효소와 접촉됨으로써 갈변 물질의 생성이 유발되는 것으로 보인다(8). 따라서 본 연구에서는 단감 과실에 있어서 CA 저장 중 폼질과 관련된 과육의 경도와 함께 과육의 갈변 유발과 관련하여 막 투과성 및 지방산 조성의 변화를 조사하여 CA 조건에 대한 단감 과실의 반응 및 갈변 장해의 발생 요인을 구명하기 위한 실험을 수행하였다.

재료 및 방법

공시 재료 및 CA 처리

11월 초순에 경북 안강 지역에서 수확된 부유 단감 과실을 공시 재료로 실험에 이용하였다. Flow board를 이용하여 질소 가스, 이산화탄소 가스 및 공기를 일정한 비율로 혼합하여 원하는 산소 및 이산화탄소 농도의 혼합 가스를 생산한 후 이 혼합 가스를 과실이 밀폐되어 있는 용기에 연속적으로 유입시킴으로서 CA 저장을 위한 조건을 조성하였는데, 산소(1, 3, 5%) 및 이산화탄소 농도(3, 5, 8%) 각 3수준을 조합하여 총 9개 조건으로 CA 처리하였으며, 대조구는 일반 저온 저장 조건(0~2°C)으로 하였다. 각 조건에서 3개월 저장한 후 처리를 종료하여 생리적 장해 발생 정도를 조사한 후 각종 분석에 이용하였다.

과육 경도의 측정

과실을 적도면에서 절단한 후, 과피로 부터 약 5mm의 내부 과육 3개 지점에 대해 5mm 직경의 탐침을 7mm의 깊이로 침투시키는데에 요구되는 압력을 texture meter(Yamaden, Rhenor RE-3305)에 의해 측정하여 dyne x 10⁷/cm²으로 표시하였다.

전해질 용출(Electrolyte Leakage)의 측정

5% 산소 및 3% 이산화탄소 조건에서 3개월간 CA 처리된 과실에서 과육 갈변 여부를 확인하여 정상 과실과 갈변 과실로 구분한 후 각 과실의 과육 조직에 대하여 전해질 용출률을 측정하였다. 즉 cork borer를 이용하여 얻은 과육 조직 절편 (두께 3mm, 지름 1cm) 4개를 20ml의 초순수에 25°C에서 2시간 동안 침지한 후의 용액의 전기 전도도와 조직을 용액과 함께 동결 해동한 후의 용액의 전기 전도도를

측정함으로써, 조직 내 총 전해질량(동결 해동후 전해질 용출량)에 대해 2시간 동안에 용출된 전해질량의 비율을 백분율로써 표시하였다. 전기 전도도의 측정에는 Orion Model 160의 conductivity meter를 이용하였다.

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 마쇄한 원심 분리 상동액을 효소 추출액으로 이용하였다. 효소 추출액의 단백질 함량은 Bradford 방법(2)에 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 30초 간격으로 475nm의 흡광도를 조사함으로써 PPO 활성을 A475의 변화량/μg protein/min으로 표시하였다.

총 폐놀 화합물의 분석

5g의 과육에 25ml의 80% ethanol을 가하여 마쇄하고 원심분리한 상동액 10ml에 0.2ml의 Folin-Ciocalteu 용액을 첨가한 다음 3분 후 1ml의 sodium carbonate를 가하고 1시간 방치 후 725nm의 흡광도를 측정하였으며, pyrocatechol을 표준 물질로 한 표준 곡선으로 부터 과육 중 총 폐놀 화합물 함량을 계산하였다.

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 chloroform 층을 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 cartridge 층의 polar lipid 성분을 회수하였다. 이 추출 용액에 40°C에서 N₂ gas를 불어 넣어 methanol을 제거한 다음 1ml의 14% BF₃(in methanol) 을 가하고 90°C에서 90분간 methylation시킨 후 2ml의 pentane:H₂O(2:1)를 가하여 지방산의 methyl ester를 pentane 층으로 회수하였으며, 지방산 methyl ester는 GC (Shimadzu 14B, Supelcowax 10 column, 30m x 0.53mm, 1.0um FT, 240C, FID)를 이용하여 분석하였다.

결과 및 고찰

저장 3개월 후 일반 저온 저장 과실에서는 과육이 심하게 연화되어 사실상 상품성을 상실하였으나 CA 처리 과실에서는 과육의 연화 정도가 비교적 심하지 않아(Fig. 1) 단감 과실에 있어서 장기간의 상품성 유지에 CA 저장 방법은 효과적으로 이용될 수 있을 것으로 판단된다. 특히 CA 저장 중에 단감 과실의 경도 변화는 산소 농도 및 이산화탄소 농도 조건과 밀접한 관련을 보여, 산소 농도가 낮을 수록 경도 감소가 억제되었는데, 1%의 저산소 조건에서는 이산화탄소의 농도 변화에 따른 경도의 변화가 나타나지 않았으나 5%의 산소 농도 조건에서는 이산화탄소 농도의 증가와 더불어 경도의 감소가 두드러지게 억제되었다. 한편 생리적 저장 장해로서 과피 및 과육의 갈변 발생 정도를 비교한 결과(Table 1), 1%의 저산소 조건에서는 과피 갈변이 관찰되었으나 과육갈변 과실은 발견되지 않았다. 그러나 산소 농도를 증가시킬 수록 과피 및 과육 갈변 정도가 증가하며 동일한 산소 농도 조건에서 이산화탄소 농도는 낮을 수록 갈변 발생이 증가하는 경향을 보였다. 따라서 과육의 경도 변화 및 생리적 장해의 발생과 관련하여 단감 과실에 있어서 1% 내외의 가급적 저농도의 산소와 8% 내외의 고농도의 이산화탄소 유지가 장기간의 품질 유지에 유리할 것으로 판단된다.

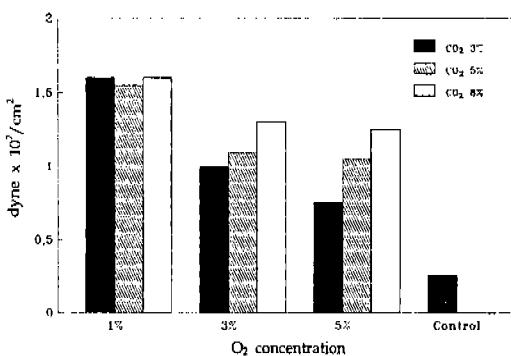


Fig. 1. Flesh hardness of persimmon fruit after storage at varied concentrations of O₂ and CO₂.

식물 조직의 갈변에는 일반적으로 PPO에 의한 polyphenol의 산화가 관련되어 있는 것으로 알려져 있으며(11), 본 실험에서는 단감 과실의 저장 중 과육 갈변 유발과 관련하여 갈변 증상이 관찰된 과실과 정상 과실의 과육 조직 내 PPO 활성과 폐놀 화합물 함량의 차이를 조사하였으나(Table 2), 전년도의 실험 결과와 유사하게 갈변 과실과 정상 과실간에 실제적으로 PPO 활성의 증가 또는 조직내 폐놀 화합물의

차이는 뚜렷하지 않았다. 그러나 세포내 전해질 용출 정도를 조사한 결과(Table 2), 갈변 과실의 조직은 정상 과실의 조직에 비하여 전해질 용출 정도가 비교적 높은 것으로 관찰되었는데, 조직의 전해질 용출률은 일반적으로 세포막의 투과성 지표로 이용되며 (7), 이는 갈변 과실에 있어서 세포막의 투과성이 정상 과실보다 증대되어 있음을 보이고, 이러한 막투과성의 증대는 과육 갈변의 발생과 관련이 있을 것으로 생각된다.

Table 1. Incidence of physiological disorder after storage of persimmon fruits at varied concentrations of O₂ and CO₂

Treatment	Skin browning (%)		Flesh browning (%)
	O ₂ 1%	CO ₂ 5%	O ₂ 3%
O ₂ 3%	3%	8	0
	CO ₂ 5%	4	0
	8%	8	0
O ₂ 5%	3%	20	8
	CO ₂ 5%	16	8
	8%	16	4
O ₂ 8%	3%	32	36
	CO ₂ 5%	28	28
	8%	20	24

Table 2. Comparison of PPO activities, phenolic compound contents and electrolyte leakages between tissues from flesh browned or uninjured intact persimmon fruits

Tissue	PPO activity (A/min/μg protein)	Phenolic content (mg/g fresh wt)	Electrolyte leakage (%)
browned fruit	0.6 ^{a*}	6.1 ^a	73 ^a
uninjured fruit	0.5 ^a	5.8 ^a	62 ^b

* Duncan's multiple range test within column (p=0.05)

한편 식물 세포의 세포막은 지질 이중층으로 이루어져 있으며(10), 지질을 구성하는 지방산의 조성은 세포막의 물리화학적 특성 및 막투과성에 영향을 미치는 것으로 알려져 있는데(9), 사과 과실의 경우 CA 조건에서는 지방산의 합성 또는 전환 등의 지방산 대사가 억제되는 것으로 보고되어 있다(1). 따라서 CA 처리된 단감 과실에서 정상 과실의 조직과 갈변

과실의 조직 간에 세포막 구성 지방산 조성의 차이를 조사한 결과(Table 3), 갈변 과실에서는 정상 과실에 비하여 총 지방산 함량이 낮을 뿐만 아니라 포화 지방산의 비율이 높게 나타나서, CA 저장 중의 지방산 대사의 저해가 세포막의 투과성 증대 및 조직의 갈변 유발과 관련이 있을 것으로 생각되었다. 그러나 동일한 CA 조건에서도 과실 개체 간에 지방산 합성 능력 또는 저장 장해 발생 여부에 차이가 있는데, 이러한 사실은 저장 개시 이전의 과실 특성 즉 과실내 무기 및 유기 화합물의 축적 정도 또는 성숙 정도등의 차이에 의해 동일한 저장 조건에 대한 각 과실의 반응이 다르게 나타남을 보인다. 따라서 저장 중 저장 장해 발생의 방지를 위하여는 적정 저장 조건의 구명 뿐만 아니라 저장 전 과실의 생리적 특성과 저장 장해 발생의 상관 관계 구명이 선행되어야 할 것으로 보인다.

Table 3. Comparison of fatty acid compositions between tissues from flesh browned or uninjured intact persimmon fruits

Fatty acid (mg/100g)	Uninjured fruit	Flesh browned fruit
16:0	21.1	18.0
16:1	5.4	4.3
16:3	6.9	0.5
18:0	2.1	1.9
18:1	36.9	25.8
18:2	9.1	7.8
18:3	40.9	30.1
Total	122.4	88.4
Saturated fatty acid (%)	19.0	22.5

요 약

단감 과실에 있어서 CA 저장 중 과육의 갈변 유발과 관련된 세포막의 생리적 특성을 조사하였다. 갈변 과실의 조직은 정상 과실의 조직에 비하여 전해질 용출 정도가 높게 관찰되어 막 투과성의 증가를 보였으며, 이러한 막투과성의 증가는 액포내 폐놀 화합물의 유출을 유발하여 PPO와 접촉함으로써 폐놀 화합물의 산화에 의한 과육 갈변을 유발하는 것으로 보인다. 또한 정상 과실의 조직과 갈변 과실의 조직 간에 세포막 구성 지방산 조성의 차이를 조사한 결과, 갈변 과실에서는 정상 과실에 비하여 총 지방산 함량이

낮을 뿐만 아니라 포화 지방산의 비율이 높게 나타났으며, CA 저장 중의 지방산 대사의 저해 및 지방산 포화도의 증가는 세포막의 투과성 증대 및 조직의 갈변 유발과 관련이 있을 것으로 생각된다.

참고문헌

- Brakemann, A., J. Streif, and F. Bangerth. (1993). Relationship between a reduced aroma production and lipid metabolism of apples after long-term controlled-atmosphere storage. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 118, 243-247.
- Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72, 248-254.
- 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.
- 최성진. (1997). 부유 단감 과육의 갈변에 대한 에틸렌의 영향. *농산물저장유통학회지* 4, 39-44.
- 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.
- 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. Sci.*, 111, 886-889.
- Lurie, S., L. Sonego, and R. Ben-Arie. (1987) Permeability, microviscosity and chemical changes in the plasma membrane during storage of apple fruit. *Sci. Hort.* 32, 73-83.
- Macheix, J., A. Fleuriel, and J. Billot. (1990) Changes and metabolism of phenolic compounds in fruits. IN *Fruit Phenolics*. CRC Press, Boca Raton, 149-237.
- Marangoni, A.G., T. Palma, and D.W. Stanley. (1996). Membranes effects in postharvest physiology. *Postharvest Biol. Technol.* 7, 193-217.
- 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., 52-84.
11. Weaver, C. and H. Charley. (1974) Enzymatic browning of ripening bananas. *J. Fd. Sci.* 39, 1200-1202.
12. Yamaki, S. (1984). Isolation of vacuoles from immature apple fruit flesh and compartmentation of sugars, organic acids, phenolic compounds and amino acids. *Plant Cell Physiol.* 25, 151-156

(1998년 3월 7일 접수)