

貯藏中 사과의 Polyphenol Oxidase의 變化에 對하여

金 玉 淵 · 孫 泰 華

慶北大學校 農科大學 食品加工學科

Changes in Polyphenol Oxidase of Apple during the Storage.

Kim, Ok Yeoun · Sohn, Tae Hwa

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

Summary

This report describes the change of internal browning and PPO in apples, when the method of storage was changed in the condition of low temperature.

Internal browning was found more Fuji harvested in November than Fuji in October. The degree of internal browning was the highest during the storage of 0.09mm 2% and 0.06mm 2%, 0.06mm 20% was followed.

In the subatmospheric storage with complete remove of CO₂, internal browning was not observed.

During the storage of P.E. film bag, Fuji harvested in November was higher than in October, and Fuji on 0.09mm 2% was higher than in 0.06mm, and Fuji during the storage of P.E. film bag was increased in PPO activity and PPO specific activity.

During the subatmospheric storage with complete remove of CO₂, PPO activity of Fuji was little changed, but it's PPO specific activity was continuously decreased. PPO activity of Ralls was more higher than PPO activity of Fuji. PPO activity and PPO specific activity during the early stage of storage and the end stage of storage were little changed.

Internal browning of Fuji was more effected CO₂ injury than chilling injury. There is no relation between internal browning and degree of PPO activity was effected by CO₂, and slightly related with internal browning.

緒 論

果實 菜蔬의 生体貯藏期間을 延長시키는 것

으로 貯藏生命을 長期間 維持시키기 위한 手段으로써 環境氣體를 變更시키기^{16,18)} 위한 일은 이미 잘 알려져 있으며 環境條件中 減壓이 果實 菜蔬에 미치는 影響에 대해 Burg¹⁾ 孫¹⁸⁾

등이 그 효과를 밝힌 바 있다. 窒素充填式 Polyethylene film 包裝貯藏法 역시 果實의 貯藏力을 보다 增進시키고자 하는 方法으로 이에 대한 研究가 활발히 進行되고 있다.

사과 品種中 生果로서 優秀한 것으로 評價되고 있는 Fuji는 包裝貯藏時 内部 褐變의 發生이 問題되고 있다. 内部 褐變의 原因에 대하여 많은 報告가 있으나, 아직 確實한 結論을 내리지 못하고 있으며, 다만 貯藏中 低溫障害, 炭酸가스障害에 따른 異常代謝 또는 細胞內의 物理的 變化등을 原因으로 보는 報告^{3,11,15}가 있다.

酵素的 褐變에 關여하는 Polyphenol Oxidase(PPO, O₂ oxidoreductase, EC 1.10.3.1)는 組織이 破損될 때에 組織에 있는 Polyphenol性 物質에 作用하여 quinone 物質을 生成시켜 褐變을 일으키는 것으로서 모든 植物에 거의 存在한다고 알려져 있다.^{4,10,20,21)}

여러 果實의^{4,10,20,21)} Polyphenol oxidase의 精製와 性質 및 果實의 成長^{2,5,8,7,9)} 中 PPO의 變化에 대하여 많은 研究가 이루어져 있

으나 PPO와 貯藏中 内部褐變과의 關係에 대한 報告는 거의 없다.

本 研究는 低溫狀態下에서 CO₂가 높은 濃度로 存在하는 Polyethylene film 貯藏과 CO₂를 完全히 除去한 減壓貯藏에 있어서 内部褐變의 有無와 貯藏中 PPO의 變化를 調査하였기에 報告하는 바이다.

材料 및 方法

供試材料

本 試驗에 使用한 사과는 慶尙北道 農村振興院 所在 果園에서 栽培한 Fuji를 1980年 10月 10日, 11月 10日에 收穫한 것과 大邱市 東區 龍溪洞 所在 農園에서 栽培한 Fuji 와 國광을 각각 1981年 11月 上旬과 11月 下旬에 收穫한 것을 試料로 使用하였다.

試驗區分

試驗區分은 Table 1 과 같다.

Polyethylene film은 0.06, 0.09mm의 두

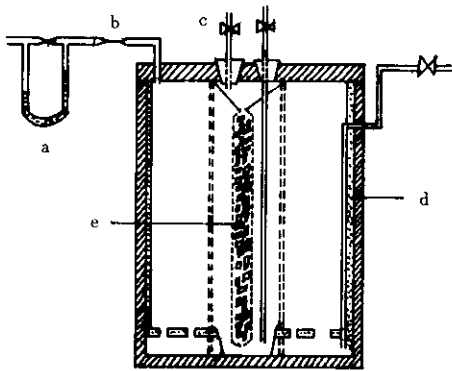
Table 1. Classification of experiment.

Polyethylene film storage (1980)			
Temp.	Date of harvest	Thickness	O ₂ %
5 ± 1 ℃	Oct. 10	0.06mm	20
			2
	Nov. 10	0.09mm	2
Subatmospheric Pressure storage (1981)			
Temp.	Pressure	(Torr.)	
5 ± 1 ℃	Normal atmospheric	760	
			570
	Subatmospheric	380	

種類를 使用하였고 1980年 10月과 11月에 各 各 採取한 試料를 包裝當 10個體씩 넣어 貯藏하였다. 이때 P.E film 包裝內的 酸素濃度는 窒素가스로 置換하여 2, 20%로 各 各 調節하고 Scholänder microgas analyzer 를 使用하여 酸素濃度를 確認한 後 $5 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 貯藏하였다.

貯藏裝置

1980年 12月에 保¹⁸⁾ 동의 自動溫度및 減壓 調節裝置를 利用하여 壓力를 常壓인 760Torr. 와 減壓인 570, 380Torr.로 調節하였고 貯藏溫度는 $5 \pm 1^\circ\text{C}$ 로 維持하였다. 貯藏中 呼吸作用에 依해 發生하는 炭酸가스를 完全히 除去하기 위해 Fig. 1과 같이 製作한 貯藏 容器內에 KOH를 注入하여 炭酸가스를 吸收 시켰다. 의



a: Flow Meter b: Porous Plug c: KOH solution b: Styrofoam e: CO₂ absorption apparatus

Fig. 1. Diagram of storage chamber.

試驗方法

1) P.E film 包裝內的 氣體組成 分析은 Scholänder micro-gas analyzer를 使用하여 分析하였다.

2) P.E film貯藏中 内部褐變

切斷하였을 때 肉眼으로 判別되는 褐變 果實數를 全体果實數에 對한 比率로 表示하였다. (肉眼的으로 褐變이 認定된 것은 褐變果實으로 취급)

3) 酵素液의 調製

Fig. 2에서와 같이 사과果實을 Polyethylene glycol과 冷acetone(-20°C)으로 磨碎하여 濾過한 後 固形物에 polyethylene glycol을 除外한 위의 操作을 反復하여 얻어진 acetone powder 0.5g을 0.05M phosphate buffer 25ml에 混合한 磨碎液을 綿布로 濾過한 後 濾液에 2倍量의 冷acetone을 넣었다 이를 7,000rpm, 0°C 에서 25分間 遠心分離하여 생긴 沈澱物을 0.01M phosphate buffer 3ml에 溶解시킨 것을 酵素液으로 하였다.

4) 酵素活性의 測定

PPO 活性의 測定은 Shimazu double beam spectrophotometer UV-200에서 行하였다.

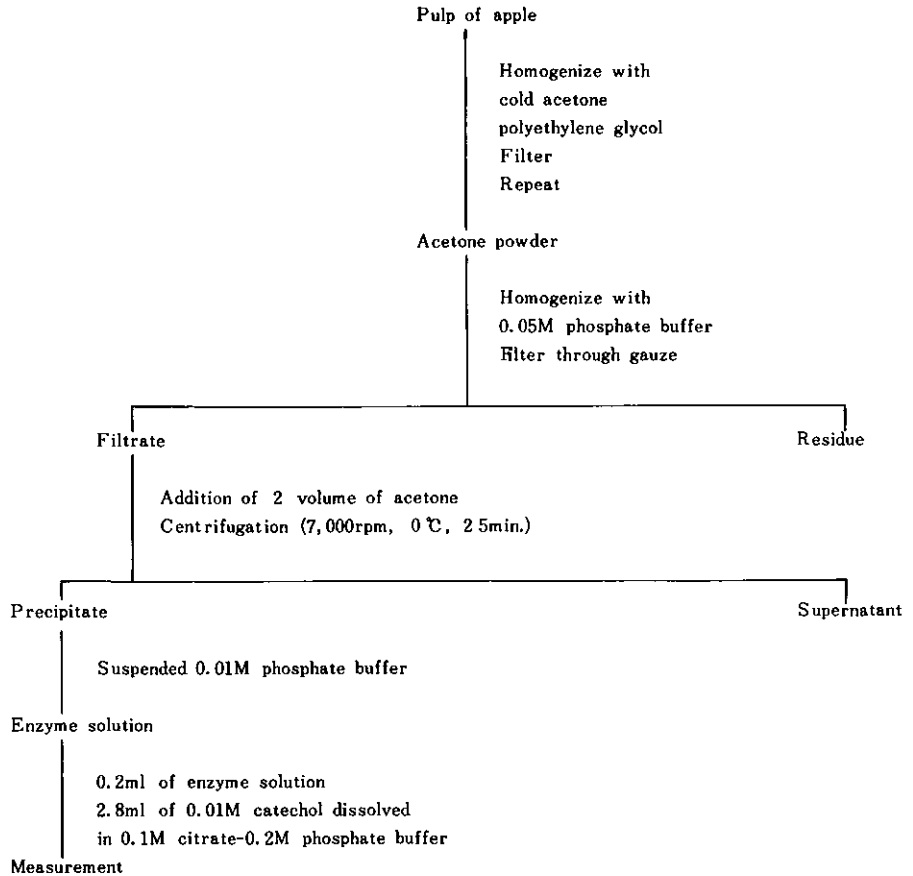
0.1M Citrate-0.2M phosphate buffer 에 0.1M Catechol을 含有하는 反應液 2.8ml에 酵素液 0.2ml를 加하여 420nm에서 吸光度를 測定하였다 이때 酵素 1ml가 分當 吸光度 1을 變化시키는 것을 1 Unit로 하였다.

5) 蛋白質 測定

Lowry法으로 測定하였으며 標準品으로는 bovine serum albumin을 使用하였다.

6) 酵素活性에 미치는 各要因의 影響

pH의 影響은 acetate buffer (pH4.0~6.0) phosphate buffer (pH6.0~8.0)를 使用하여 Fuji와 國광의 PPO의 最適pH를 調査하였고, 溫度의 影響은 酵素液과 反應液을 $0 \sim 50^\circ\text{C}$ 에 反應시켜 最適溫度를 求하였다. 熱에 對한 安定性은 酵素液 0.6ml를 $50 \sim 90^\circ\text{C}$ 의 各溫度에서 5分, 30分 加熱處理한 後 얼음에 즉시 넣어 식힌 다음 殘存하는 酵素活性을 測定하였다. 熱處理하지 않은 酵素液의 活性을 100으로 하고 各各을 相對值로 表示하였다.



*One unit: Change in absorbance of 1 at 420nm/min-ml enzyme = 1 unit activity

Fig. 2. Polyphenol oxidase activity measurement.

結 果

* P.E film 包裝內的 氣體組成 變化

10월에 收穫된 Fuji를 P.E film 包裝에 貯藏하는 동안 film 包裝內的 氣體組成의 變化는 Fig. 3에 나타난 바와 같이 炭酸가스 濃度는 0.09mm 初期酸素濃度 2%區에서 다소 높았고 全般的으로 初期에는 增加하다가 貯藏 30日부터 거의 平衡에 達하였다. film 包裝內的 酸素濃度는 polyethylene 두께 및 初期 酸素濃度에 따라 많은 差異를 보였는데 低酸素濃度區는 貯藏日數가 經過함에 따라 完滿히 增加하였고 高酸素濃度區는 減少하였으나

0.06mm 20%區가 가장 높았고 0.06mm 2%區, 0.09mm 2%區 順이었다.

11월에 貯藏한 Fuji를 貯藏한 경우는 Fig. 4에서와 같이 10월에 貯藏한 試料과 같은 傾向이었으나 平衡에 達하는 時期가 10月 貯藏 試料에 비해 약간 짧아지는 傾向이었다.

* P.E film 貯藏中 内部褐變

P.E film 貯藏中 内部褐變은 Table 2에서와 같이 11월에 收穫된 Fuji에서 더 심하게 나타났고 0.09mm 2%區가 0.06mm區보다 심하게 나타났다.

* 酵素活性에 미치는 主要因의 影響

Fuji와 국광에 있어서 PPO에 미치는 pH

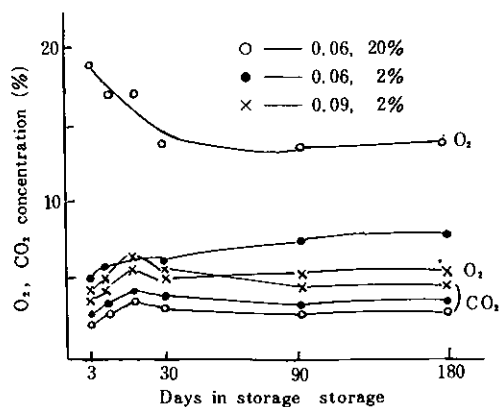


Fig. 3. Changes of concentration of CO₂ and O₂ in the P.E. film storage of Fuji harvest in October.

의 影響은 Fig. 5 와 같다. Fuji의 最適 pH 는 6.2이었고 pH 7 부터 급격히 減少하였다.

국광의 경우 最適 pH는 6.8이었고 pH 7.5 부터 活性이 급격히 減少하였다.

PPO.의 最適反應溫度는 Fig. 6 에서 나타난 바와 같이 Fuji는 25℃ 부근 이었고 국광은 35℃ 부근이었다.

PPO.의 熱에 대한 安定性은 Fig. 7, 8 에서 나타난 바와 같이 Fuji는 30分處理區에서 60℃ 부터 失活이 일어나기 始作하였으며 70℃에서 거의 失活이 되었다.

국광은 30分處理區나 5分處理區 다같이 60℃까지는 失活이 없었으며 70℃ 부근에서

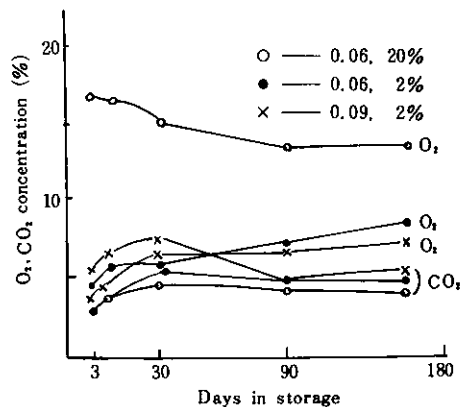


Fig. 4. Changes of concentration of CO₂ and O₂ in the P.E. film storage of Fuji harvest in November.

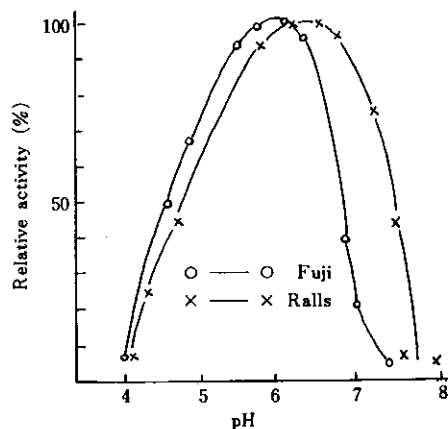


Fig. 5. Effect of pH on the polyphenol oxidase activity of Fuji and Ralls.

Table 2. Changes of internal browning in Fuji during the P.E. film storage .

Date of harvest	Treatment			Days in storage						
	Thickness mm	O ₂ %	Temp. °C	30	60	90	120	150	180	210
10 / 10	0.06	20	5 ± 1	0	0*	0	10	10	30	40
	0.06	2		0	0	0	10	20	40	60
	0.09	2		0	20	20	50	90	100	100
11 / 10	0.06	20	5 ± 1	0	10	10	20	50	00	70
	0.06	2		0	0	20	20	40	70	100
	0.09	2		0	30	70	100	100	70	

*The ratio of browning in Fuji

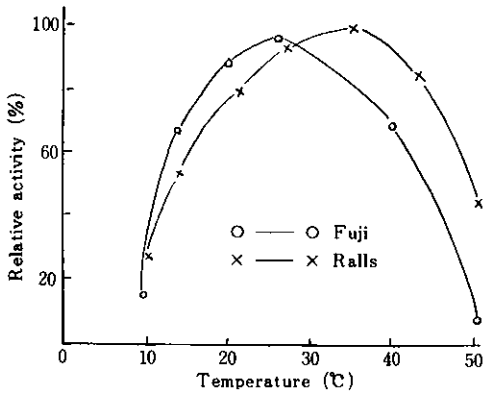


Fig. 6. Effect of temperature on the polyphenol oxidase of Fuji and Ralls.

급격한 失活을 하는 것으로 보아 국광이 Fuji 보다 熱에 대한 安定性이 높음을 알 수 있다.

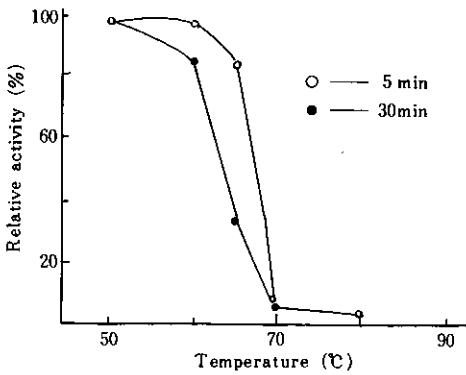


Fig. 7. Thermal stability of polyphenol oxidase in Fuji.

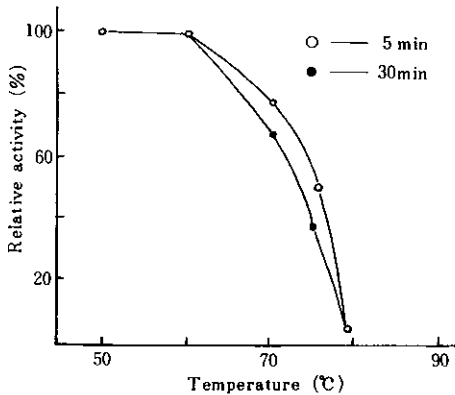


Fig. 8. Thermal stability of polyphenol oxidase in Ralls.

* P.E film 包裝中 PPO.의 變化
 低温下의 P.E 包裝 貯藏中 Fuji의 PPO.의 變化는 다음과 같다. 10월에 收穫한 Fuji의 貯藏中 PPO. activity의 變化는 Fig. 9와 같이 점진적으로 增加하였고 0.09mm 2% 區가 다른 區에 비해 다소 높았으며 貯藏中 PPO.의 specific activity도 Fig.10에 나타난 바와 같이 같은 傾向이었다.

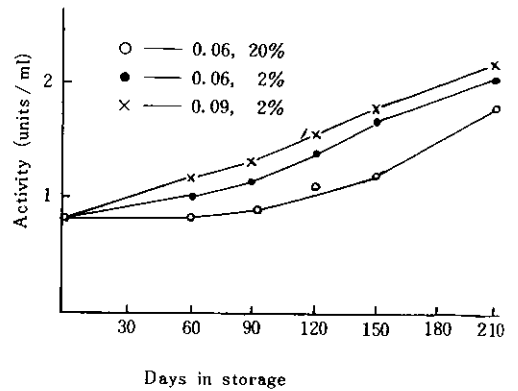


Fig. 9. Change of polyphenol oxidase activity during P.E. film storage of Fuji harvested in October.

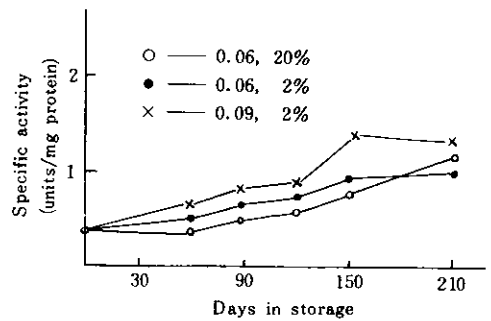


Fig. 10. Changes of PPO specific activity during the P.E. film storage of Fuji harvested in October.

11월에 收穫한 Fuji의 경우 Fig. 11, 12에서 나타난 바와 같이 10월에 收穫한 것과 類似한 傾向이었으나 PPO. activity 및 Specific activity가 다소 높았다.

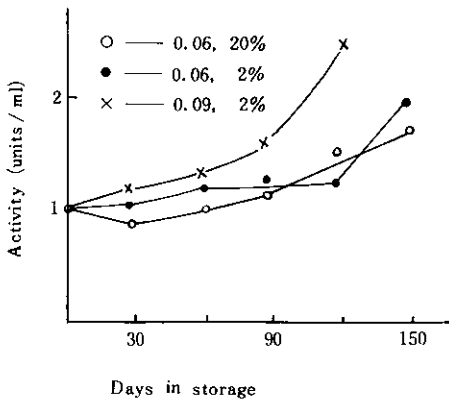


Fig. 11. Change of polyphenol oxidase activity during P. E. film storage of Fuji harvested in November.

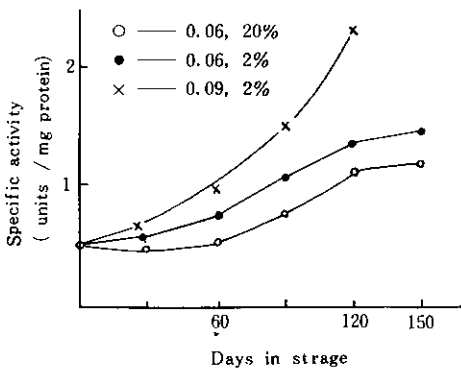


Fig. 12. Changes of PPO specific activity during P. E. film storage of Fuji harvested in November

*減壓 貯藏中 PPO.의 變化

CO₂를 完全히 除去한 低溫 減壓貯藏中 Fuji와 국광의 PPO. activity는 Fig. 13, 14 와 같다. Fuji의 경우 PPO. activity가 貯藏 90日까지는 減少했으나, 貯藏 120日에 서는 貯藏 初期와 같은 activity로 增加하였다. 그리고 380Torr.에서 PPO activity가 다소 높았다. 국광의 경우 Fuji와 같은 경향이었 으나 PPO activity가 Fuji에 비해 상당히 높았다.

減壓 貯藏中 Fuji의 PPO. specific activity는 Fig. 15에 나타난 바와 같이 減少하였

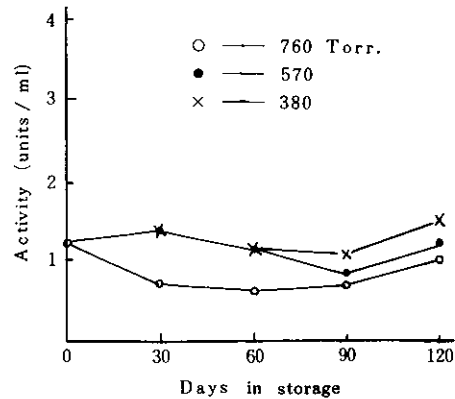


Fig. 13. Changes of polyphenol oxidase activity during the subatmospheric pressure storage of Fuji.

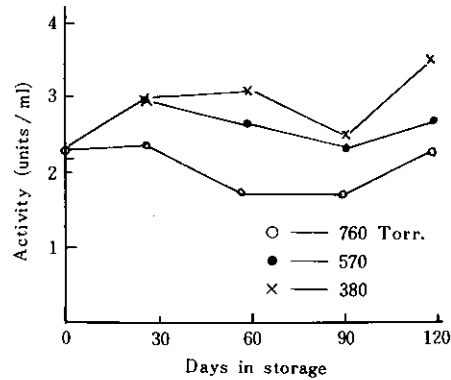


Fig. 14. Changes of polyphenol oxidase activity during the subatmospheric pressure storage of Ralls.

으나, 국광의 PPO. specific activity는 Fig. 16에서 나타난 바와 같이 貯藏 初期와 거의 差異가 없는 것으로 나타났다.

考 察

内部褐變이 일어난 Fuji의 P. E film 貯藏中 包裝内の 氣體組成은 film두께別, 初期酸素濃度別에 따라 差異를 보였다.

貯藏中 靑果物은 呼吸作用으로 film包裝内の 酸素를 消費하고 炭酸가스를 生成시키며

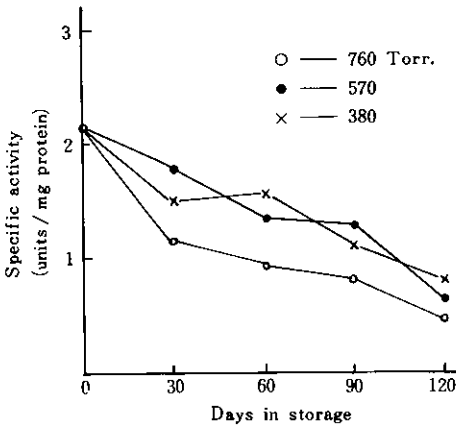


Fig. 15. Changes of PPO specific activity during the subatmospheric pressure storage of Fuji.

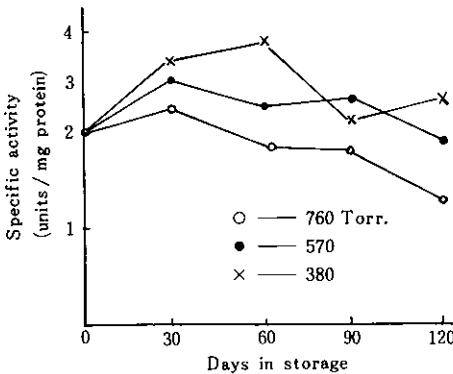


Fig. 16. Changes of PPO specific activity during the subatmospheric pressure storage of Ralls.

이때 P. E film 포장의 기체透過速度는 film의 두께,面積, 포장량 등의 요인에 따라 상당한 差異가 있기 때문이다. 포장내 CO₂濃度는 0.09mm 2%區가 0.06mm 2%區, 0.06mm 20%區보다 다소 높았으며 O₂농도는 0.06mm 20%區에서 가장 높았고 0.06mm 2%區, 0.09mm 2%區의 順이었다. 그리고 内部褐變은 11월에 收穫한 Fuji가 10월에 收穫한 Fuji보다 많이 나타났고 0.09mm 2%區가 0.06mm 2%區와 0.06mm 20%區보다 심하게 나타났다.

이는 CO₂에 의한 障害로 보인다.

果實 菜蔬에 存在하는 PPO.는 polyphenol 性物質과 作用하여 褐變을 일으킨다. PPO.는 性質이 類似한 數種의 酵素 混合物로서 基質特異性이나 最適pH, 最適溫度 失活溫度 등의 범위가 분명하지 않는 것으로 알려져 있다"

Fuji와 국광에 있어 最適pH는 각각 6.2, 6.8이었고 最適溫度는 25℃, 35℃이었고, 熱에 대한 安定性은 국광이 Fuji보다 높았다.

果實의 貯藏中 内部褐變은 아직 확실한 結論을 내리지 못하고 있으나, 低温障害, 炭酸 가스障害 등에 의한 異常代謝 및 細胞內의 物理的 變化 등의 원인으로 일어난다고 報告^{16, 21, 20)}하고 있으며 生理障害가 일어날 때 PPO.가 증가한다는 報告²²⁾와 아울러 polyphenol 性 特質이 정상적인 呼吸基質로 使用되지 않고 酸化한다는 報告²³⁾ 등도 있다.

内部褐變이 많이 나타나는 P. E film 貯藏中 PPO.의 activity는 점차적으로 增加하였고, 0.09mm 2%區가 0.06mm 2%區, 0.06mm 20%區보다 높았다. PPO. specific activity도 같은 경향이였다. 收穫時期에 따라 PPO. activity 및 PPO. specific activity에 差異가 나타났다. 内部褐變이 심하게 나타난 11월 收穫 Fuji에서 PPO. activity 및 PPO. specific activity가 높았다. CO₂를 완전히 除去한 低温 減壓貯藏初期와 같은 activity로 增加 하였으며 PPO. specific activity는 貯藏中 계속 減少 하였다. 국광의 貯藏中 PPO. activity의 變化는 Fuji와 같은 경향이 었으나 PPO. activity가 Fuji에 비해 상당히 높았으며 PPO. specific activity는 貯藏初期와 거의 차이가 없었다. 이는 Fuji의 内部褐變이 低温障害라기 보다는 CO₂障害로 보이며 어떠한 條件下에서도 상당히 높았는 것으로 보아 品種間의 PPO. 活性 程度와 内部褐變과의 關聯은 거의 없는 것 같다.

그러나 Fuji의 경우 1차년도, 2차년도의 試驗에서 貯藏中 CO₂의 有無에 따라 PPO.의 活性 程度에 差異를 보였으며 PPO. activ

ity가 증가하면서 内部褐變의 頻度가 많아짐으로 보아 후자의 경우 PPO의 活性 增大는 CO₂의 影響을 받은 것으로 보이며 内部褐變과 어느정도 關聯이 있는 것으로 보인다.

摘 要

사과 Fuji와 국광을 低温 狀態下에서 貯藏 方法을 달리하였을 때, 内部褐變 및 PPO의 變化에 대하여 조사한 결과는 다음과 같다.

1. P.E film貯藏에 있어서 内部褐變 程度는 11월에 收穫한 Fuji가 10월에 收穫한 Fuji보다 많았고, 0.09mm 2%區에서 가장 많이 나타났고 0.06mm 2%區, 0.06mm 20%區의 順이었으며 CO₂를 완전히 除去한 減壓貯藏에서는 内部褐變을 볼 수 없었다.

2. P.E film貯藏中 Fuji의 PPO. activity 및 PPO. specific activity는 11月 收穫이 10月 收穫에 비해 높았으며, 0.09mm의 2%區가 0.06mm區보다 높았고, 貯藏中 增加하는 傾向이었고, CO₂를 완전히 除去한 減壓貯藏 동안 Fuji의 PPO. activity는 變化가 거의 없었으나 PPO. specific activity는 계속 減少하였다.

3. 국광의 PPO. activity는 Fuji에 비해 상당히 높았고 貯藏中 PPO. activity 및 specific activity는 貯藏 初期와 거의 差異가 없었다.

4. 以上으로 미루어 Fuji의 内部褐變은 低温 障害보다는 CO₂ 障害로 보이며 品種間의 PPO. activity의 程度와 内部褐變의 關聯은 찾을 수 없는 것 같다. 그러나 Fuji의 경우 PPO. activity 增大는 CO₂의 影響을 받은 것으로 보이며 内部褐變과 어느정도 關聯이 있는 같다.

引 用 文 獻

1. Burg, S.P. and E. A. Burg. 1965. Ethylene action and ripening of fruits Ethylene fluences the growth and development of plants and is the hormone which indicates fruits ripening. Science. 148; 1190-1196.
2. Flurkey, W.H. and J. J. Je k 1978. Peroxidase and polyphenol oxidase activity in developing peach. Journal of food science. 43; 1826-1831.
3. 八嶽利郎. 1968. 内外の試験成績かりみだりゴの CA貯藏條件と生理障害. 果實日本. 23(3); 30-33.
4. Halin, D. H. 1978. Polyphenol oxidase of d'Anjou pears. Journal of food science. 43; 603-6 8.
5. Harel, E. A. M. Maygr and H. R. Lerner. 1970. Changes in the levels of catechol oxidase and lac case activity in developing peaches. J. sci. Fd. Agric. 21; 542-544.
6. Harer, E. A. M. Mayer and Y. shain. 1966. Catechol oxidase. Endogenous substrate and browning in developing apples. J. sci. Fd. Agric. 17; 389-392.
7. Hobson, G.E. 1967. Phnolase activity in e tomato fruit in relation to growth and to various ripening disorders. J. sci. Fd. Agric. 21; 523-526.
8. 本多靖, 石里修, 1968. 果實とそ菜の保存に關する研究. 園藝學會雜誌. 37(3); 77-82.
9. Joseph J. Jen and Kristi R. Kahler. 1974. Characterization of polyphenol oxida sein peach -es grown in southeast. Science. 9(6); 590-591.
9. Jen, J. J. and K. R. Kahler. 1974. Characterization of polyphenol oxida sein peaches grown in southeast. Hort Science. 9(6); 590-591.
10. Jesus Rivas N.D. and J. R. Whitaker, 1973. Purification and some properties of two polyphenol oxidase from Bartrett pears. Plant physiol. 52; 501-507.
10. 工藤亞義, 1976. リソコ貯藏中の生理障害とその對策. 農耕と園藝. 9; 216-219.
12. Lowry, D. H. N.J. Rosebrough, A.L. Farr.

- and R. J. Randall. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Bio. Chem.* 193; 265-275.
13. Mayer, A. M., and E. Harel. 1979. Polyphenol oxidases in plants. *Phytochemistry.* 18; 193-215
14. 南出隆久, 垣生俊夫, 緒方那安. 1980. 數種キノコ類鮮度におよぼす貯藏温度の影響. *日本食品工業學會誌.* 27(6); 17-23. 工
15. Murata, T. 1969. Physiological and biochemical studies of chilling injury in bananas. *Physoil. Plant* 22; 401-411.
16. 岡本辰夫, 原田順厚. 1959. 貯藏リンゴの生化学的研究. *日農化.* 33; 753-756.
17. Shannon, C. T., and D. E. Partt. 1967. Apple polyphenol oxidase activity in relation to various phenolic compounds. *Journal of food science.* 32; 479-483.
18. 孫泰華. 1975. 嶺南大學校大學院 博士學位論文.
19. Thornton, N. C. Carbon dioxide storage III. 1933. The influence of carbon dioxide of the oxygen uptake by fruits and vegetables. *Contrieb. Boyce. Thempson. Inst.* 5; 371-402.
20. Wissemann K. W. and C. Y. Lee. 1981. Characterization of polyphenol oxidase from Ravat 51 and Niagara grapes. *Journal of food science.* 46; 506-507.
21. Wong, T. C. and J. R. Whitaker. 1971. Isolation and characterization of polyphenol oxidase of clingstone peach. *Plant physiol.* 48; 19-23.
22. 山本昭平, 植係低温障害の機構. *化学と生物.* 13(1); 62-67.